



**Filipe Alexandre Guedes dos Santos**

Licenciado em Química Aplicada

## **Estratégias sintéticas para a preparação de glicoglicerofosfatos e glicoglicerofosfoamidatos**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Química Bioorgânica**

Orientador: Paula Cristina de Sérgio Branco, Professora Auxiliar com  
agregação, FCT/UNL

Co-orientador: Patrícia Isabel da Silveira Máximo, Investigadora,  
LAQV, FCT/UNL

Presidente: Professor Doutor António Jorge Dias Parola  
Arguente(s): Doutora Krasimira Todorova Markova-Petrova  
Vogal(ais): Professora Doutora Paula Cristina de Sérgio Branco



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

[02/2021



## **Direitos de cópia**

### **Estratégias sintéticas para a preparação de glicerofosfatos e glicerofosfoamidatos**

*Copyright* © Filipe Alexandre Guedes dos Santos, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## Agradecimentos

Gostaria de começar por manifestar o meu sincero obrigado a todas as pessoas envolvidas na realização deste trabalho.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à professora Paula Branco por me ter dado a oportunidade de participar neste projeto e pela orientação prestada no meu desenvolvimento como químico. Uma palavra de apreço para as professoras Luísa Ferreira e Ana Lourenço pela ajuda prestada sempre que necessário.

Um agradecimento especial à Dr. Patrícia Máximo, que foi o meu anjo da guarda, disponível para me ajudar 22h por dia, 7 dias por semana. Foi um enorme prazer absorver conhecimento de uma pessoa que demonstra tamanha paixão pelo que faz diariamente.

Queria agradecer a todos os membros dos laboratórios 202 e 205 que estiveram presentes ao longo do último ano. À Catarina Cardoso pela boa disposição e pelas manhas de trabalho com início às 11.30h. Ao patrão do laboratório, Rafael Rippel, pela orientação e ensinamentos. Ao padrinho, João Sarrato, por ter sido o meu mentor ao longo da minha jornada académica. À minha parceira de almoço, Débora, um obrigado nunca será suficiente.

Gostaria de agradecer à Tatiana Pereira por ser uma pessoa especial na minha vida e uma fonte de alegria e apoio diário. A sua boa disposição e sorriso contagiante foram fundamentais nesta etapa.

Por fim, um agradecimento à minha família que me deu todas as condições possíveis para ser bem-sucedido. Para os meus avôs e avó que infelizmente já não estão presentes para assistir à conclusão desta etapa da minha vida.

## Resumo

Os fosfoglicogliceróis são estruturas pouco abundantes na natureza que desempenham um papel fundamental na constituição da parede e da membrana celular. Deste modo, surgiu o interesse na preparação deste tipo de unidades estruturais com aplicações farmacêuticas.

Este trabalho teve como principal objetivo a síntese de um novo fosfoglicoglicerol isolado de *Asparagopsis armata* com atividade antimicrobiana. A sua estrutura exata ainda é desconhecida, no entanto, um conjunto de análises espectroscópicas revelam a presença de unidades de  $\alpha$ -D-galactose, glicerol e etanolamina fosfato.

A estratégia sintética descrita para a preparação desta estrutura consiste em três passos reacionais, a síntese de uma unidade de açúcar previamente protegida seletivamente, a síntese de um glicerofosfato ou glicerofosfoamido e finalmente, o acoplamento entre estes dois fragmentos.

Para a preparação do primeiro, foram utilizados dois grupos de proteção (Bz e Bn) com o objetivo de estudar o efeito dos grupos participantes na configuração do produto final. A preparação deste fragmento iniciou-se com uma reação de proteção dos grupos hidroxilo da D-(+)-galactose seguida de uma halogenação na posição anomérica. Apenas o composto benzoilado foi obtido segundo este método. Para a estrutura benzilada foi desenvolvida uma alternativa sintética para que, após proteção, fosse conduzida a hidrólise da posição anomérica, seguida de esterificação através de uma reação de acetilação e finalmente uma reação de halogenação nesta posição.

No caso do fragmento glicerofosfato, a sua preparação consistiu na substituição dos dois grupos hidroxilo primário do glicerol com um grupo de proteção e um reagente de fósforo. O grupo hidroxilo secundário livre posteriormente seria envolvido no acoplamento à unidade de galactose. Deste modo, foram estudadas duas vias que diferem entre si na ordem nas reações. As várias abordagens conduzidas não tiveram sucesso uma vez que surgiram problemas associados à formação de intermediários cíclicos com o átomo de fósforo. É necessário estudar outros métodos para a preparação deste tipo de estruturas em que a reação com o composto de fósforo, ocorra, por exemplo, após o acoplamento da unidade do açúcar com o glicerol.

**Palavras chave:** fosfoglicoglicerol; *Asparagopsis Armata*; etanolamina fosfato; glicerofosfato;  $\alpha$ -D-galactose



## Abstract

Phosphoglycoglycerol are structures not so abundant in nature but with a relevant paper on it as being the constituents of the cell wall and cell membrane. As so, these structural units are the goals on the demand for new targets for therapeutic interventions.

With this work, we aim the synthesis of a new phosphoglycoglycerol isolated from *Asparagopsis armata* with proven antimicrobial activity. The exact structure is still unknown, however, three structural units were identified as  $\alpha$ -D-galactose, glycerol and an ethanolamine phosphate group.

The synthesis of this newly phosphoglycoglycerol structures and analogues can be approach in three main steps, the synthesis of sugar moiety previously protected, the synthesis of the phosphoglycerol by attachment of the phosphate (or phosphoamidate) fragments to the glycerol moiety; and finally, a coupling reaction between these two fragments.

For the preparation of the sugar moiety, two protecting groups (Bz and Bn) were used to study the effect of the participating groups in the coupling reaction product configuration. The synthesis of this fragment consists in a protecting reaction of the sugar followed by the anomeric halogenation. Only the benzoyl product was obtained following this method. For the benzyl structure, an alternative route was studied, consisting in a protecting reaction, followed by an anomeric hydrolysis and esterification and finally an halogenation.

The synthesis of the phosphoglycerol consists of a selective protection of the glycerol moiety followed by the attachment with a phosphate fragment. This would result in a glycerol moiety with a phosphorus substituent and a protecting group, in both primary hydroxyls, and a secondary free hydroxyl group for the coupling reaction with the sugar moiety. Two synthetic routes were studied, differing in the reactions order. Both approaches failed, as a result of problems related to the formation of cyclic intermediates. An alternative for the preparation of this structures can be studied in which, the reaction with the phosphorus compound occurs after the coupling between the sugar moiety and the glycerol.

**Keywords:** phosphoglycoglycerol; *Asparagopsis Armata*;  $\alpha$ -D-galactose; ethanolamine phosphate; phosphoglycerol





# Índice de Conteúdos

Agradecimentos .....	I
Resumo.....	II
Abstract .....	IV
Índice de Figuras .....	IX
Índice de Esquemas.....	XIII
Índice de Tabelas.....	XIV
Lista de abreviaturas .....	XV
Glossário de estruturas .....	XVII
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1. Produtos Naturais para fins terapêuticos.....	1
1.2. Organismos marinhos como fonte de produtos naturais .....	3
1.3. <i>Asparagopsis armata</i> .....	4
1.4. Fosfoglicogliceróis .....	5
1.5. Abordagens sintéticas para a preparação de fosfatos e fosfoamidatos .....	10
1.6. Galactose Fosfatos.....	12
1.7. Reações de acoplamento .....	14
<b>2. Discussão de Resultados .....</b>	<b>18</b>
2.1. Preâmbulo .....	18
2.2. Reações de derivatização do glicerol .....	20
2.2.1. Preparação de glicerofosfato e glicerofosfoamidoato .....	20
2.2.1.1. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol <b>44</b> .....	20
2.2.1.2. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato <b>45</b> .....	22
2.2.1.3. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil dietanolamina fosfato <b>46</b> (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-etanolamina) fosfato <b>47</b> .....	23
2.2.1.4. Síntese de 3-((tert-butildifenil silil)oxi)propano1-di(N-Z-etanolamina)fosfato <b>51</b> .....	24
2.2.1.5. Síntese de 4-((tert-butil difenilsilano) metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano 52 e de 4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano <b>53</b> .....	26
2.2.1.6. Síntese de 3-((tert-butildifenil silil)oxi)propano1,2-diol 54 e de 3-(benziloxi)propano-1,2-diol <b>55</b> .....	29
2.2.1.7. Preparação dos glicerofosfatos <b>47, 51 e 57</b> .....	30
2.3. Reações de derivatização da galactose .....	33
2.3.1. Preparação de brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>58</b> .....	34
2.3.2. Preparação de brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>59</b> .....	35

2.3.2.1. Síntese de metil $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>61</b> .....	36
2.3.2.2. Síntese de metil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil .....	38
2.3.2.3. Síntese de 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>62</b> .....	39
2.4. Reações de acoplamento .....	46
2.4.1. Proteção do glicerol.....	46
2.4.1.1. Síntese de de 1- <i>O</i> -benzil-3- <i>O</i> -(tert-butildifenilsilil)glicerol <b>24</b> .....	46
2.4.2. Síntese do composto derivado glicoglicerol <b>66</b> .....	47
3. <b>Conclusões e perspectivas futuras</b> .....	50
4. <b>Procedimento Experimental</b> .....	53
4.1. Preâmbulo geral .....	53
4.2. Síntese e caracterização do glicerofosfato e intermediários .....	54
4.2.1. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol <b>44</b> .....	54
4.2.2. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato <b>45</b> .....	55
4.2.3. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-Etanolamina) fosfato <b>47</b> .....	56
4.2.4. Síntese de 3-((oxi(di-N-Z-etanolamina fosfato)) propano-1,2-diol <b>49</b> .....	58
4.2.5. Síntese de 3-((tert-butildifenil silil)oxi)propano-1-di(N-Z-etanolamina)fosfato .....	51
.....	59
4.2.6. Síntese de 4-((tert-butil difenilsilano) metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano <b>52</b> .....	60
4.2.7. Síntese de 4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano <b>53</b> .....	61
4.2.8. Síntese de 3-((tert-butildifenil silil)oxi)propano1,2-diol <b>54</b> .....	62
4.2.9. Síntese de 3-(benziloxi)propano-1,2-diol <b>55</b> .....	63
4.2.10. Síntese de 6-(benziloxi)propano-4(oxi)-di(N-Z-etanolamina)fosfato <b>57</b> .....	64
4.3. Reações de derivatização da galactose .....	64
4.3.1. Síntese de 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>60</b> .....	64
4.3.2. Síntese de Brometo de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>58</b> .....	65
4.3.3. Síntese de Metil $\alpha$ -D-Galactopiranosil <b>61</b> .....	66
4.3.4. Síntese de metil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil .....	67
4.3.5. Síntese de 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>62</b> .....	68
4.3.6. Síntese de Brometo de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>59</b> .....	70
4.3.7. Síntese de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>63</b> .....	72
4.3.8. Síntese de 1-acetil-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>64</b> .....	73
4.4. Reações de acoplamento .....	74
4.4.1. Síntese de 1- <i>O</i> -benzil-3- <i>O</i> -(tert-butildifenilsilil)glicerol <b>24</b> .....	74
4.4.2. Síntese de [1-(tert-butil-difenilsililoxi-metil)-2-( <i>O</i> -benzil)-etil] (tetra- <i>O</i> -acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil) <b>66</b> .....	75

5. Referências .....	78
6. Anexos.....	84
6.1 Apêndice 1 - (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol <b>44</b> .....	84
6.2 Apêndice 2 - (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato <b>45</b> .....	85
6.3 Apêndice 3 – Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-Etanolamina) fosfato <b>47</b> .....	86
6.4 Apêndice 4 –3-((oxi(di-N-Z-etanolamina fosfato)) propano-1,2-diol <b>49</b> .....	88
6.5 Apêndice 5 – 1-(N-Z-etanolamina) fosfato-(1,2,5-dioxafosfolano-3-il)20-((tert-butildifenil silil)oxi) <b>67</b> .....	89
6.6 Apêndice 6 – 4-((tert-butil difenilsilano) metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano <b>52</b> .....	90
6.7 Apêndice 7 – 4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano <b>53</b> .....	91
6.8 Apêndice 8 – 3-((tert-butildifenil lsilil)oxi)propano1,2-diol <b>54</b> .....	92
6.9 Apêndice 9 – 3-(benziloxi)propano-1,2-diol <b>55</b> .....	93
6.10 Apêndice 10 – 2-aminoetil (3-(benziloxi)-2-hidroxipropil) fosfato <b>69</b> .....	94
6.11 Apêndice 11 – 1,2,3,4,6-penta-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>60</b> .....	95
6.12 Apêndice 12 – Brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>58</b> .....	96
6.13 Apêndice 13 – Metil $\alpha$ -D-Galactopiranosil <b>61</b> .....	97
6.14 Apêndice 14 – 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose <b>70</b> .....	98
6.15 Apêndice 15 – 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose <b>71</b> .....	101
6.16 Apêndice 16 - 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>63</b> .....	105
6.17 Apêndice 17 – 1-acetil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactopiranosil 64 e 1-acetil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactopiranosil <b>72</b> .....	105
6.18 Apêndice 18 – 1-O-benzil-3-O-(tert-butildifenilsilil)glicerol <b>24</b> .....	109
6.19 Apêndice 19 – [1-(tert-butil-difenilsililoxi-metil)-2-(O-benzil)-etil] (tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil) <b>66</b> .....	110

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1</b> - Algumas estruturas moleculares de compostos ativos .....	1
<b>Figura 1.2</b> - Percentagem de fármacos que são derivados direta ou indiretamente de produtos naturais; “N” são produtos naturais inalterados;” NB” são produtos “botânicos” com mecanismo de ação igual ao extrato natural e “ND” são derivados dos produtos naturais com alterações semi-sintéticas. Figura retirada do artigo de 2019 de Newman e Cragg <sup>8</sup> .....	2
<b>Figura 1.3</b> - Alguns ésteres etílicos isolados de um extrato de <i>Asparagopsis armata</i> .....	4
<b>Figura 1.4</b> - Estruturas base de glicoglicerolípidos .....	5
<b>Figura 1.5</b> - Estrutura base de fosfoglicerolípidos.....	5
<b>Figura 1.6</b> - Estrutura do fosfoglicerol PG1 isolado das espécies <i>Halomonas</i> .....	6
<b>Figura 1.7</b> - Estrutura da fosfatidiletanolamina (PEA), fosfatidilglicerol (PG) e bifosfatidil glicerol (DPG).....	7
<b>Figura 1.8</b> - Estrutura do fosfatidilinositol.....	7
<b>Figura 1.9</b> - Estrutura do fosfoglicerol PGDG extraído de <i>Thalassiora weissflogii</i> .....	7
<b>Figura 1.10</b> - Estruturas de fosfoglicerolípidos que contém fosfocolina (GGPL-I e GGPL-III) isolados de <i>Mycoplasma fermentans</i> .....	8
<b>Figura 1.11</b> - Fragmentos 5,6 e 7 presentes na estrutura de um novo fosfoglicerol isolado de <i>A. armata</i> .....	9
<b>Figura 1.12</b> - Estruturas possíveis para um novo fosfoglicerol isolado de <i>A. Armata</i> .....	10
<b>Figura 1.13</b> - Estruturas de glicerofosfoamidato <b>12</b> e glicerofosfato <b>13</b> .....	10
<b>Figura 1.14</b> - Vias sintéticas para a preparação de fosfoamidatos.....	11
<b>Figura 1.15</b> - Uma via sintética para a preparação de dialquilo fosfocloridatos .....	12
<b>Figura 1.16</b> - Uma via sintética descrita para a preparação de fosfatos <sup>43</sup> .....	12
<b>Figura 1.17</b> - Alguns exemplos de vias sintéticas descritas para a preparação de galactose-6-fosfatos.....	13
<b>Figura 1.18</b> - Alguns exemplos de vias sintéticas descritas para a preparação de galactose-1-fosfatos.....	14
<b>Figura 1.19</b> - Estratégia sintética utilizada por Welzel et al. para a reação de acoplamento entre a unidade de açúcar e uma unidade de glicerol .....	14
<b>Figura 1.20</b> - Estratégia sintética utilizada por Mannock et al. para a reação de acoplamento entre a unidade de açúcar e uma unidade de glicerol.....	15
<b>Figura 1.21</b> - Mecanismo da reação de Koenigs–Knorr e produtos laterais.....	16
<b>Figura 1.22</b> - Glicosilação seletiva na presença de TTMPP <b>33</b> descrita por Sun et al.....	16

<b>Figura 2.1</b> - Estratégias sintéticas para a preparação dos glicerofoamidato e gliceofosfato <b>40</b> e <b>41</b> respetivamente.....	19
<b>Figura 2.2</b> - Estratégia sintética para a reação de acoplamento entre a unidade de açúcar <b>42</b> e o glicerofoamidato e glicerofofato <b>40</b> e <b>41</b> , respetivamente .....	19
<b>Figura 2.3</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN da estrutura intermediário cíclico <b>67</b> (400 Hz, $\text{CDCl}_3$ ) ..	25
<b>Figura 2.4</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN do produto secundário <b>68</b> (400 Hz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	26
<b>Figura 2.5</b> - Comparação entre os espectros de $^1\text{H}$ RMN em $\text{CDCl}_3$ (cima) e $\text{MeOD-d}_4$ (baixo) composto <b>52</b> .....	28
<b>Figura 2.6</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN da estrutura proposta para o intermediário <b>69</b> (400 MHz; $\text{MeOD-d}_4$ ) .....	32
<b>Figura 2.7</b> - Estruturas de brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>58</b> e brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil <b>59</b> .....	33
<b>Figura 2.8</b> - Estruturas <b>61</b> e <b>63</b> e representação das orbitais .....	37
<b>Figura 2.9</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>61</b> (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) .....	38
<b>Figura 2.10</b> - Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>61</b> (101 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) .....	38
<b>Figura 2.11</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN do produto da reação de benzilação da D-galactose (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ), H1f (furanose) e H1p (piranose) .....	39
<b>Figura 2.12</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose <b>70</b> (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	40
<b>Figura 2.13</b> - Espectro de HSQC de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose <b>70</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	40
<b>Figura 2.14</b> - Espectro de NOESY 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose <b>70</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	41
<b>Figura 2.15</b> - Formas e configurações da D-Galactose obtidas para as reações de benzoilação e benzilação .....	41
<b>Figura 2.16</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose <b>71</b> (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	42
<b>Figura 2.17</b> - Espectro de HSQC de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose <b>71</b> (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	43
<b>Figura 2.18</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN de 2,3,4,6-penta-O-benzil-D-galactopiranosose <b>63</b> (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	43
<b>Figura 2.19</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN do produto da reação de acetilação (500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	45

<b>Figura 2.20</b> - Esquema reacional para o acoplamento entre o composto <b>24</b> e $\alpha$ -D-acetobromogalactose.....	46
<b>Figura 2.21</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>66</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	48
<b>Figura 4.1</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>44</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	55
<b>Figura 4.2</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>44</b> (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	55
<b>Figura 4.3</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>45</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	56
<b>Figura 4.4</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>47</b> (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	57
<b>Figura 4.5</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>47</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	58
<b>Figura 4.6</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>47</b> (101 MHz, MeOD-d4) .....	58
<b>Figura 4.7</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>49</b> (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	59
<b>Figura 4.8</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>52</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	61
<b>Figura 4.9</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>53</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	62
<b>Figura 4.10</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>54</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	63
<b>Figura 4.11</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>55</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	63
<b>Figura 4.12</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>60</b> (400 Hz, $\text{CDCl}_3$ ).....	65
<b>Figura 4.13</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>58</b> (500 Hz, $\text{CDCl}_3$ ).....	66
<b>Figura 4.14</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>61</b> (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ).....	67
<b>Figura 4.15</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>61</b> (101 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) .....	67
<b>Figura 4.16</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do produto da reação de benzilação (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	69
<b>Figura 4.17</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose <b>70</b> (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	69
<b>Figura 4.18</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose <b>70</b> (101 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	70
<b>Figura 4.19</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose <b>71</b> (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	71
<b>Figura 4.20</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose <b>71</b> (101 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	71
<b>Figura 4.21</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactopiranosil <b>63</b> (400 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	72
<b>Figura 4.22</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>63</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	73
<b>Figura 4.23</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do produto da reação de acetilação (500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	74
<b>Figura 4.24</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>24</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	75

<b>Figura 4.25</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>66</b> (101 MHz, MeOD-d4) .....	76
<b>Figura 4.26</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>66</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	76
<b>Figura 6.1</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>44</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	84
<b>Figura 6.2</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>44</b> (101 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	84
<b>Figura 6.3</b> - Espetro de IV do composto <b>44</b> .....	85
<b>Figura 6.4</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>45</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	85
<b>Figura 6.5</b> - Espetro de IV do composto <b>45</b> .....	86
<b>Figura 6.6</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>47</b> segundo método A (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	86
<b>Figura 6.7</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>47</b> segundo método B (400 MHz, MeOD-d4) .....	87
<b>Figura 6.8</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>47</b> (101 MHz, MeOD-d4) .....	87
<b>Figura 6.9</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>49</b> (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	88
<b>Figura 6.10</b> - Espetro de IV do composto <b>49</b> .....	88
<b>Figura 6.11</b> - Espetro de $^1\text{H}$ do composto <b>67</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	89
<b>Figura 6.12</b> - Espetro de IV do composto <b>67</b> .....	89
<b>Figura 6.13</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>52</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	90
<b>Figura 6.14</b> - Espetro de IV do composto <b>52</b> .....	90
<b>Figura 6.15</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>53</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	91
<b>Figura 6.16</b> - Espetro de IV do composto <b>53</b> .....	91
<b>Figura 6.17</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>54</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	92
<b>Figura 6.18</b> - Espetro de IV do composto <b>54</b> .....	92
<b>Figura 6.19</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>55</b> (400 MHz, MeOD-d4) .....	93
<b>Figura 6.20</b> - Espetro de IV do composto <b>55</b> .....	93
<b>Figura 6.21</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN da estrutura proposta para o intermediário <b>69</b> (400 MHz; MeOD-d4) .....	94
<b>Figura 6.22</b> - Espetro de IV da estrutura proposta para o intermediário <b>69</b> .....	94
<b>Figura 6.23</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>60</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	95
<b>Figura 6.24</b> - Espetro de IV do composto <b>60</b> .....	95
<b>Figura 6.25</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>58</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	96
<b>Figura 6.26</b> - Espetro de IV do composto <b>58</b> .....	96
<b>Figura 6.27</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>61</b> (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) .....	97
<b>Figura 6.28</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>61</b> (101 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) .....	97
<b>Figura 6.29</b> - Espetro de IV do composto <b>61</b> .....	98
<b>Figura 6.30</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>70</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	98



<b>Figura 6.31</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>70</b> (101 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	99
<b>Figura 6.32</b> - Espetro de HSQC do composto <b>70</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	99
<b>Figura 6.33</b> - Espetro de NOESY do composto <b>70</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	100
<b>Figura 6.34</b> - Espetro de HMBC do composto <b>70</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	100
<b>Figura 6.35</b> - Espetro de IV do composto <b>70</b> .....	101
<b>Figura 6.36</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>71</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	101
<b>Figura 6.37</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>71</b> (101 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	102
<b>Figura 6.38</b> - Espetro de 135-DEPT do composto <b>71</b> (101 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	102
<b>Figura 6.39</b> - Espetro de HSQC do composto <b>71</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	103
<b>Figura 6.40</b> - Espetro de HSQC do composto <b>71</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	103
<b>Figura 6.41</b> - Espetro de COSY do composto <b>71</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	104
<b>Figura 6.42</b> - Espetro de IV do composto <b>71</b> .....	104
<b>Figura 6.43</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>71</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	105
<b>Figura 6.44</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN dos compostos <b>64</b> e <b>72</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	105
<b>Figura 6.45</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN dos compostos <b>64</b> e <b>72</b> (126 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	106
<b>Figura 6.46</b> -Espetro de DEPT-135 dos composto <b>64</b> e <b>72</b> (126 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	106
<b>Figura 6.47</b> - Espetro de HSQC dos compostos <b>64</b> e <b>72</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	107
<b>Figura 6.48</b> - Espetro de HMBC dos compostos <b>64</b> e <b>72</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ) .....	107
<b>Figura 6.49</b> - Espetro de COSY dos compostos <b>64</b> e <b>72</b> (400 Hz; $\text{CDCl}_3$ ).....	108
<b>Figura 6.50</b> - Espetro de IV dos compostos <b>64</b> e <b>72</b> .....	108
<b>Figura 6.51</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>24</b> (400 MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ) .....	109
<b>Figura 6.52</b> - Espetro de IV do composto <b>24</b> .....	109
<b>Figura 6.53</b> - Espetro de $^1\text{H}$ RMN do composto <b>66</b> (400 MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ) .....	110
<b>Figura 6.54</b> - Espetro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto <b>66</b> (101 0MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ) .....	110
<b>Figura 6.55</b> - Espetro de DEPT-135 do composto <b>66</b> (101 MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ) .....	111
<b>Figura 6.56</b> - Espetro de HSQC do composto <b>66</b> (400 MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ).....	111
<b>Figura 6.57</b> - Espetro de COSY do composto <b>66</b> (400 MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ).....	112
<b>Figura 6.58</b> - Espetro de HMBC do composto <b>66</b> (400 MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ) .....	112
<b>Figura 6.59</b> - Espetro de NOESY do composto <b>66</b> (400 MHz, $\text{MeOD-d}_4$ ) .....	113
<b>Figura 6.60</b> - Espetro de IV do composto <b>66</b> .....	113

## Índice de Esquemas

<b>Esquema 2.1</b> - Análise retrossintética das estruturas a sintetizar .....	18
--	----

<b>Esquema 2.2</b> - Abordagens sintéticas para a preparação do glicerofosfato e glicerofosfoamidato .....	20
<b>Esquema 2.3</b> - Esquema reacional da síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol 44.....	21
<b>Esquema 2.4</b> - Esquema reacional da síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato 45 .....	22
<b>Esquema 2.5</b> - Esquema reacional da síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil dietanolamina fosfato 46 (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-Etanolamina) fosfato 47 .....	23
<b>Esquema 2.6</b> - Esquema reacional para a preparação composto 51 .....	24
<b>Esquema 2.7</b> - Esquema reacional da síntese de tert-butil((2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)methoxi)difenilsilano 52 e de 4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano 53 .....	27
<b>Esquema 2.8</b> - Esquema reacional da síntese de 3-((tert-butildifenil isilil)oxi)propano1,2-diol 54 e de 3-(benziloxi)propano-1,2-diol 55 .....	29
<b>Esquema 2.9</b> - Esquema reacional para a preparação dos glicerofosfatos 47, 51 e 57 ..	31
<b>Esquema 2.10</b> - Mecanismo para a síntese dos compostos 51 e 57 .....	31
<b>Esquema 2.11</b> - Via sintética para a preparação de brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil 58 .....	34
<b>Esquema 2.12</b> - Vias sintética para a preparação de Brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil (a) NaH, BnBr, TBAI, DMF; (b) AcOH, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , reflux; (c) (COBr) <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ...	36
<b>Esquema 2.13</b> - Mecanismo reacional para a preparação de glicosidos.....	36
<b>Esquema 2.14</b> - Vias sintética para a preparação do fosfoglicoglicerol 65 (a) NaH, BnBr, DMF; (b) AcOH, 1,2 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , reflux; (c) Ac <sub>2</sub> O, piridina, DMAP; (d) HBr/AcOH, DCM, t.a.; (e) Brometo de tetrabutilamonio, molecular sieves, álcool nucleófilo 49, 51 ou 57, DIEA .....	44
<b>Esquema 3.1</b> - Alternativa sintética para a preparação do glicoglicerofosfato.....	51

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Rendimentos obtidos para diferentes condições reacionais.....	21
<b>Tabela 2</b> - Caracterização dos compostos 47 e 49; <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	24
<b>Tabela 3</b> - Caracterização dos compostos 52 e 53; <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, MeOD-d <sub>4</sub> ) .....	28
<b>Tabela 4</b> - Comparação dos rendimentos obtidos.....	29
<b>Tabela 5</b> - Caracterização dos compostos 54 e 55; <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, MeOD-d <sub>4</sub> ) .....	30
<b>Tabela 6</b> - Comparação dos desvios químicos no espectro de <sup>1</sup> H RMN entre os sinais dos prótons do anel de pirose dos compostos 58 e 60 .....	35

**Tabela 7** - Comparação da distribuição dos produtos e dos desvios químicos do próton anomérico para os vários compostos derivados da D-galactose .....45

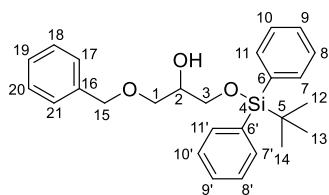
**Tabela 8** - Caracterizações do composto **24**;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD- $d_4$ ).....47

## Lista de abreviaturas

$^{13}\text{C}$ RMN	Ressonância Magnética Nuclear de carbono
$^1\text{H}$ RMN	Ressonância Magnética Nuclear de próton
$^{31}\text{P}$ RMN	Ressonância Magnética Nuclear de fósforo
ATP	Trifosfato de adenosina
ATR	Reflexão Total Atenuada
Bn	Benzilo
Bz	Benzoílo
CBZ	Benziloxycarbonilo
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
d	Dupleto
DCM	Diclorometano
dd	Dupleto de dupletos
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMAP	4-dimetilaminopirrolidina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DPG	difosfatidil glicerol
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
ESI-MS	<i>Electrospray Ionization – Mass Spectrometry</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infra Red</i>
Gal1	Galactose-1-fosfato
Gal6	Galactose-6-fosfato
Gal $f$	Galactose forma furanose
Gal $p$	Galactose forma piranose
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>

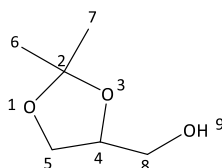
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum coherence</i>
HTS	<i>High Throughput Screening</i>
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
m	Multiplete
m/z	Razão massa/carga
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
PEA	Fosfatidiletanolamina
PEP	Fosfoenolpiruvato
PG	Fosfatidilglicerol
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Singuleto
S <sub>N</sub> 2	Substituição nucleofílica bimolecular
t	Triplete
TBAI	Iodeto de Tetra-n-butilamónio
TBDPS	<i>Tert</i> -Butil Difenilsilano
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-visível
δ	Desvio químico
ν	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )

## Glossário de estruturas



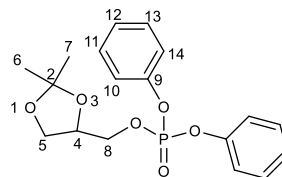
**24**

1-O-benzil-3-O-(tert-butildifenilsilil)glicerol



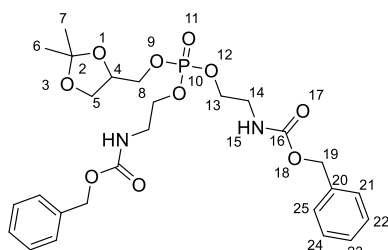
**44**

(2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol



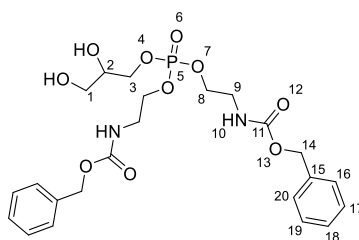
**45**

(2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato



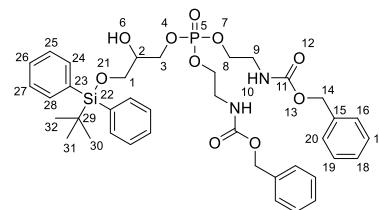
**47**

(2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-Etanolamina) fosfato



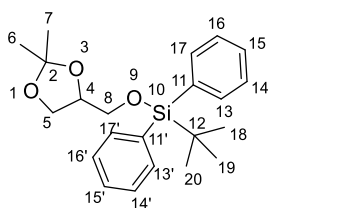
**49**

(3-((oxi(di-N-Z-etanolamina fosfato)) propano-1,2-diol



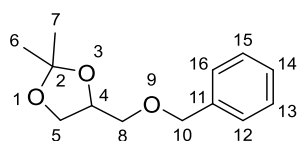
**51**

3-((tert-butildifenil silil)oxi)propano-1-di(N-Z-etanolamina)fosfato



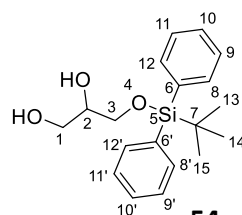
**52**

4-((tert-butil difenilsilano) metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano



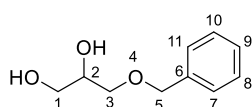
**53**

4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano



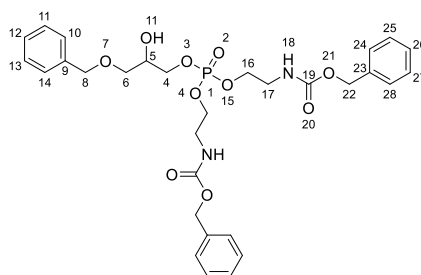
**54**

3-((tert-butildifenil lsilil)oxi)propano1,2-diol



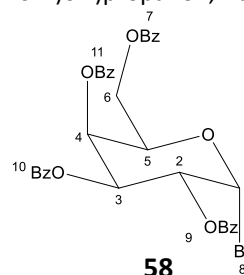
**55**

3-(benziloxi)propano-1,2-diol



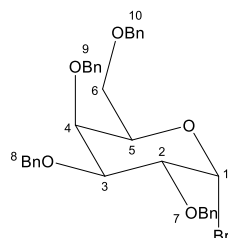
**57**

6-(benziloxi)propano-4(oxi)-di(N-Z-etanolamina)fosfato



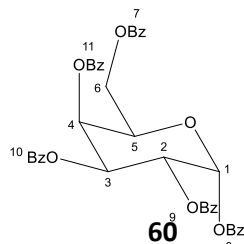
**58**

Brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzoílo-α-D-galactopiranosil



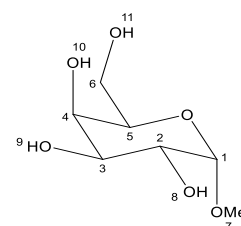
**59**

Brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-α-D-galactopiranosil



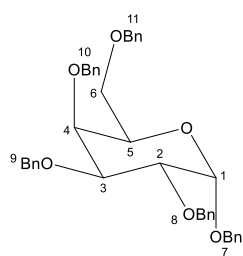
**60**

1,2,3,4,6-penta-O-benzoílo-α-D-galactopiranosil



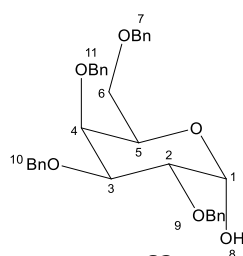
**61**

Metil α-D-Galactopiranosil



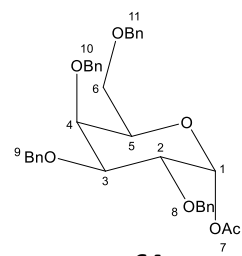
**62**

1,2,3,4,6-penta-O-benzil-  
α-D-galactopiranosil



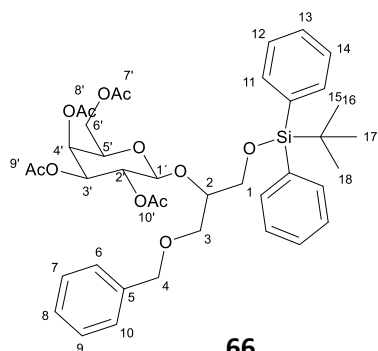
**63**

2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-  
galactopiranosil



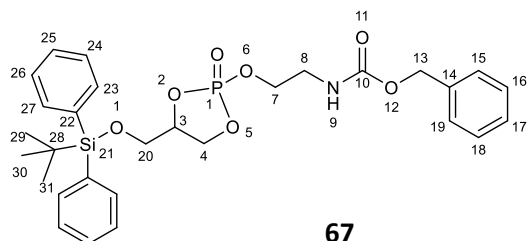
**64**

1-acetil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-α-D-  
galactopiranosil



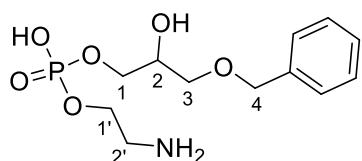
**66**

[1-(tert-butyl-difenilsililoxi-metil)-2-(O-  
benzil)-etil] (tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil)



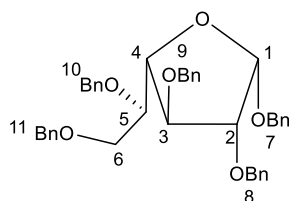
**67**

1-(N-Z-etanolamina)fosfato-(1,2,5-  
dioxafosfolano-3-il)20-((tert-butildifenil silil)oxi)



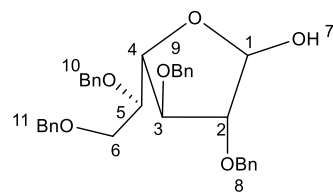
**69**

2-aminoetil (3-(benziloxi)-  
2-hidroxiopropil) fosfato



**70**

1,2,3,4,6-penta-O-benzil-α-  
D-galactofuranose



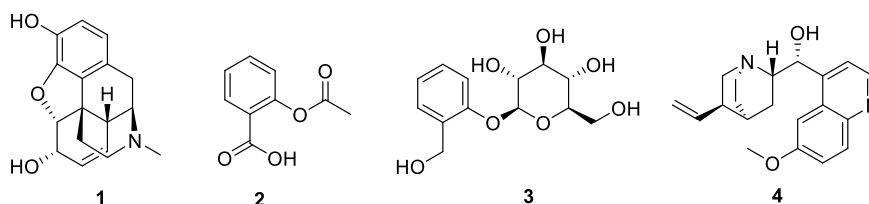
**71**

2,3,4,6-tetra-O-  
benzil-D-galactofuranose

# 1. Introdução

## 1.1. Produtos Naturais para fins terapêuticos

Desde sempre que as plantas e produtos naturais derivados estiveram relacionados com o tratamento de doenças na vida dos seres humanos. Acompanhando a evolução da ciência, surgiu a ideia de que os efeitos produzidos pelos extratos naturais eram a consequência do efeito de moléculas específicas biologicamente ativas. Deste modo, a utilização dos produtos naturais na medicina começou a depender do isolamento de compostos ativos. Na figura 1.1 estão representadas algumas estruturas de compostos biologicamente ativos e de origem natural: o primeiro produto natural puro introduzido para fins terapêuticos foi a morfina (**1**) comercializada pela Merck em 1826<sup>1</sup> e a primeira droga semi-sintética a aspirina (**2**), derivada de um produto natural salicilina (**3**), que foi comercializada pela Bayer em 1899. A descoberta da quinina (**4**) no século XVII é considerada uma das mais revolucionárias na área da medicina e o seu uso para o tratamento da malária representa a primeira aplicação bem-sucedida de um composto químico para a cura de uma doença infecciosa<sup>2</sup>.



**Figura 1.1** - Algumas estruturas moleculares de compostos ativos

Em meados do séc. XX, o desenvolvimento da tecnologia e de novos métodos espectroscópicos permitiram uma estimulação na indústria da química dos compostos naturais. Durante muitos anos, foi o estudo das estruturas destes compostos e respetiva síntese que permitiu avanços na descoberta de novas reatividades químicas<sup>3</sup>. Estes compostos podem ser encontrados numa grande diversidade de espécies de plantas, animais, microrganismos e organismos marinhos que representam uma abundância de metabolitos secundários com diferentes estruturas químicas e que desempenham um papel muito importante na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos<sup>4</sup>.

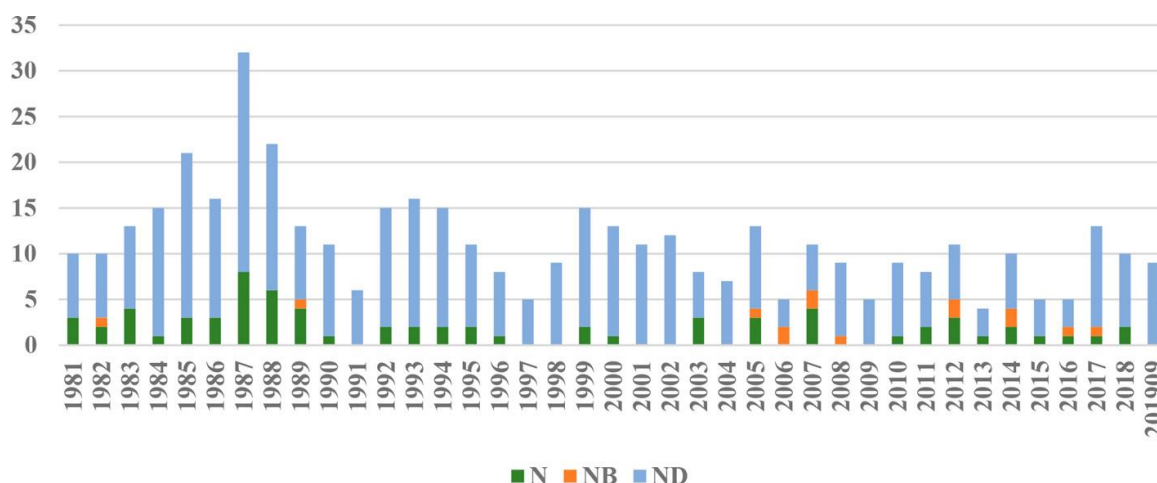
Tradicionalmente, os produtos naturais com aplicações farmacêuticas são extraídos diretamente do seu habitat natural. No entanto, de um ponto de vista de sustentabilidade do ecossistema e de rentabilidade, não é possível uma extração ilimitada destes compostos

diretamente do seu habitat. Uma estratégia alternativa é a utilização da síntese química para a produção de compostos com aplicação medicinal. Todavia, a complexidade das estruturas de muitos dos produtos naturais dificulta a sua síntese química<sup>5</sup>.

O mercado farmacêutico global está avaliado em cerca de 1.1 trilhões de dólares anualmente. Cerca de 41% desses fármacos tem origem, direta ou indireta, de produtos naturais incluindo plantas (25%), microrganismos (13%) e animais (3%). Na medicina moderna, os produtos naturais ou derivados continuam a constituir uma importante fonte de recursos no desenvolvimento de novos fármacos para muitas indústrias farmacêuticas. Alguns exemplos da sua aplicação são: i) uma fonte direta de agentes terapêuticos; ii) uma fonte para o desenvolvimento de drogas semi-sintéticas; iii) protótipos para o design de moléculas alvo<sup>6,7</sup>.

Dada a evolução ao longo dos anos na química dos produtos naturais para o desenvolvimento de fármacos, começaram a surgir alguns estudos e análises temporais. Um dos exemplos é um artigo de revisão da autoria de Newman e Cragg onde é feita uma análise do impacto e da evolução do uso dos produtos naturais para a produção de fármacos nas últimas quatro décadas (1981-2019)<sup>8</sup>.

Na figura 1.2 está representado um gráfico de barras que mostra a percentagem de produtos naturais utilizados na produção de fármacos desde 1981 até 2019. Desde a data de registo mais antiga (1981) que se verificou um aumento gradual no uso dos produtos naturais na indústria farmacêutica até ao ano de 1987 que marcou o declínio até aos dias de hoje<sup>9</sup>.



**Figura 1.2** - Percentagem de fármacos que são derivados direta ou indiretamente de produtos naturais; “N” são produtos naturais inalterados; “NB” são produtos “botânicos” com mecanismo de ação igual ao extrato natural e “ND” são derivados dos produtos naturais com alterações semi-sintéticas. Figura retirada do artigo de 2019 de Newman e Cragg<sup>8</sup>



Com o aparecimento dos sistemas iniciais de *High-Throughput Screening (HTS)* no início da década de 90, verificou-se um declínio no número de fármacos baseados em produtos naturais. Este método começou a ser preferencialmente utilizado na indústria farmacêutica na área de *drug discovery*, permitindo a identificação de novas estruturas biologicamente ativas, através do processamento de milhares de estruturas e a capacidade de replicação de mais de 250 mil amostras por dia.

## **1.2. Organismos marinhos como fonte de produtos naturais**

No início da medicina dita “tradicional”, foi a diversidade de organismos maioritariamente de origem vegetal que mais contribuiu para a descoberta dos primeiros fármacos. No entanto, o desenvolvimento biotecnológico possibilitou uma utilização mais variada de produtos naturais biologicamente ativos na medicina moderna. Por exemplo, a aplicação de metabolitos derivados de microrganismos como agentes quimioterapêuticos no tratamento de doenças infecciosas e cancerígenas. Mais recentemente, compostos obtidos a partir de organismos marinhos, como esponjas, algas e fitoplâncton têm sido fundamentais na descoberta de novas drogas<sup>10</sup>.

Os organismos marinhos, apesar de abundantes, não tiveram tanto impacto na medicina tradicional como as plantas. No entanto, o povo antigo dos fenícios é um dos exemplos da utilização de organismos marinhos com aplicações no quotidiano. Estes utilizavam uma excreção química de moluscos marinhos para produção de corantes roxos para vestuário de lã. Também as algas marinhas têm registos de aplicações antigas na fertilização dos solos.

O interesse na investigação de compostos marinhos como fontes de novos compostos biologicamente ativos surgiu no meio da década de 1970. No período de 1977-1987 foram identificados cerca de 2500 novos metabolitos com origem marinha. Faulkner, no seu artigo de revisão de 1998<sup>11</sup>, refere que foram descritas cerca de 840 novas estruturas de organismos marinhos apenas nesse ano. Mais recentemente, em novo artigo de revisão<sup>12</sup>, o número aumentou para 1003 novos compostos descritos em publicações no ano de 2010. Estes estudos enaltecem a diversidade de compostos bioativos no ambiente marinho sendo que muitos destes não são encontrados em fontes terrestres.

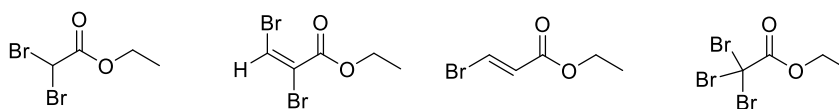
Enquanto que a investigação na área da química medicinal sempre se focou muito na procura de novos agentes com potencial anticancerígeno, o primeiro produto de origem marinha a ser aprovado como fármaco foi a Ziconotida, um analgésico atualmente

comercializado como Prialt®<sup>13</sup>. Este composto foi isolado como constituinte de um veneno utilizado, por uma espécie de caracóis marinhos, na captura das suas presas. Para além destes animais, existem outras fontes marinhas como por exemplo as esponjas, bactérias, fungos e algas. Uma dessas algas é a *Asparagopsis armata*.

### 1.3. *Asparagopsis armata*

Descrita pela primeira vez por Harvey em 1855<sup>14</sup>, a alga vermelha *Asparagopsis armata* é originária do hemisfério sul, mas encontra-se distribuída desde o Oceano Atlântico até à baía do Senegal<sup>15</sup>. É um organismo invasor com capacidade de produzir compostos com bromo, iodo e cetonas que produzem efeitos tóxicos noutras espécies. É extremamente rico em moléculas biologicamente ativas<sup>16</sup>. É cultivada para fins comerciais no norte da Europa para obtenção de extratos com aplicações na cosmética e cremes para o tratamento do acne, como por exemplo, nos produtos Ysaline 100® e Invincity®.

As algas vermelhas são descritas desde o início do séc. XIX como sendo uma fonte de compostos halogenados, principalmente com bromo e iodo, com forte atividade antifúngica e antibiótica<sup>17</sup>. Os compostos produzidos são sobretudo terpenos, acetilenos e fenóis. Num artigo de McConnell e Fenical<sup>18</sup>, são identificados alguns compostos isolados de um extrato de *Asparagopsis armata*.



**Figura 1.3** - Alguns ésteres etílicos isolados de um extrato de *Asparagopsis armata*

Após extração com etanol e lavagens com pentano, uma série de halometanos foram isolados, incluindo MeI, CHCl<sub>3</sub> e CCl<sub>4</sub>. Na figura 1.3 estão também representados 4 ésteres etílicos isolados, que são derivados halogenados do ácido acético e do ácido acrílico.

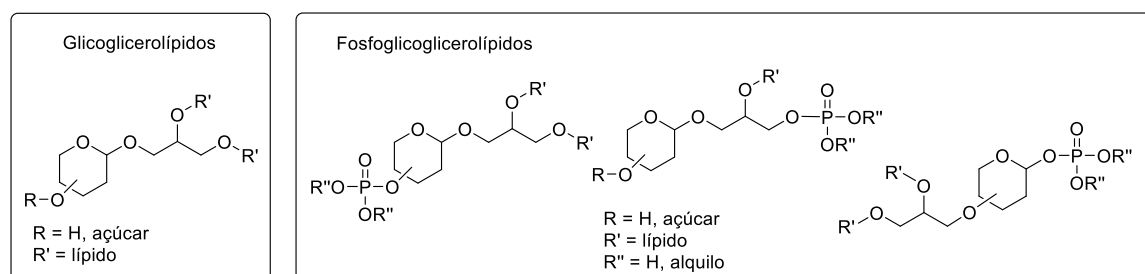
Apesar de ser originária no hemisfério sul, a espécie *Asparagopsis armata* existe com alguma abundância na costa portuguesa. Daí que seja do interessa nacional, explorar os metabolitos biologicamente ativos existentes nesta alga, bem como as suas aplicações na área da medicina. Um dos exemplos está descrito neste trabalho, o desenvolvimento de uma estratégia sintética para a preparação de um fosfoglicoglicerol isolado de um extrato de *Asparagopsis armata*.

## 1.4. Fosfoglicogliceróis

Os compostos glicolípidos representam uma classe vasta de produtos naturais biologicamente ativos, com uma variedade de estruturas moleculares e funções biológicas essenciais. Estes são constituídos estruturalmente por um fragmento glicosídico ligado a uma cadeia lipídica<sup>19</sup>. Estes compostos representam uma fração maioritária da constituição das membranas biológicas.

Apesar da sua enorme diversidade estrutural, a classe dos glicolípidos pode ser dividida em vários grupos de acordo com a natureza do fragmento lipídico, sendo que os glicoglicerolípidos são o principal constituinte desta classe de compostos<sup>20,21</sup>. Estes podem ser encontrados em produtos naturais, sobretudo algas marinhas<sup>22</sup>, cianobactérias e plantas.

Na figura 1.4 está representada um exemplo de estrutura base de glicoglicerolípidos caracterizada por um fragmento de glicerol disubstituído com duas cadeias lipídicas, diretamente ligado a um mono- ou oligossacárido, maioritariamente na posição C3. Este tipo de compostos contém diversas atividades biológicas descritas tais como, anti-tumor<sup>23</sup>, anti-virais<sup>24</sup> e anti-inflamatórias<sup>25</sup> e por isso, são compostos de elevado interesse na indústria farmacêutica. No entanto, devido à sua reduzida abundância natural, surgiu a necessidade de desenvolver vias sintéticas para a preparação destas moléculas.



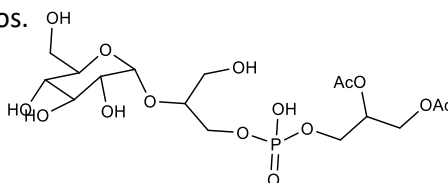
**Figura 1.4 - Estruturas base de glicoglicerolípidos** **Figura 1.5 - Estrutura base de fosfoglicoglicerolípidos**

Os fosfoglicoglicerolípidos (figura 1.5) são estruturas derivadas dos glicoglicerolípidos, constituídas por um esqueleto de açúcar, glicerol mono- ou disubstituído por cadeias de lípidos e fosfato. Apesar de não serem tão abundantes na natureza, estes compostos desempenham um papel importante a nível biológico por serem um dos constituintes da membrana e da parede celular. A ligação P-O pode ocorrer diretamente com a unidade de açúcar, nas posições C1 ou C6, ou com o glicerol numa das posições primárias. Existe ainda, uma subclasse deste tipo de compostos, quando os átomos de oxigénio do glicerol não estão substituídos, denominada de fosfoglicogliceróis.

Para sobreviverem em ambientes mais severos, muitos microrganismos precisam de desenvolver estruturas membranares capazes de se adaptarem ao ambiente e assegurar a permeabilidade e a estabilidade constante. No caso das espécies *Thermus* e *Meiothermus*, duas bactérias termófilas foram identificadas com estruturas de fosfoglicogliceróis com funções biológicas nestas bactérias associadas à capacidade de assegurar a estabilidade térmica da membrana celular<sup>26</sup>. Grupos mais volumosos, devido à presença de fósforo aumentam a proteção estérea<sup>27</sup>, possibilitando a estabilização da membrana contra o *stress* osmótico através de pontes de hidrogénio.

Outro dos exemplos, é a presença de fosfoglicogliceróis na estrutura do ácido teicóico, sob a forma de copolímeros bacterianos de fosfato de glicerol e carboidratos ligados por ligações fosfodiéster. Um exemplo destas estruturas foi identificada num polímero de ácido teicóico isolado de *Streptococcus faecalis*<sup>28</sup>, com função de fortificação da parede celular<sup>29</sup>.

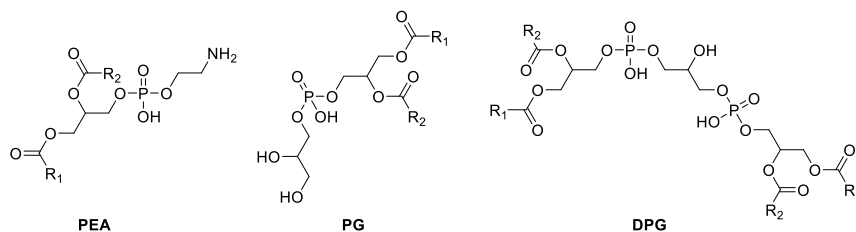
Os fosfoglicogliceróis podem ser ainda encontrados numa variedade de organismos. Por exemplo, uma nova estrutura, presente em seis espécies de bactérias Gram-Negativas *Halomonas*, foi identificada e caracterizada<sup>30</sup> (figura 1.6) em cuja constituição se identifica uma unidade de glucose, dois gliceróis e um fosfato. Os organismos halófilos são capazes de suportar variações nos níveis de sal extracelulares através de vários mecanismos. Um deles, consiste na modificação da estrutura membranar, afetando a concentração de fosfolípidos e a composição de ácidos gordos.



**Figura 1.6** - Estrutura do fosfoglicoglicerol PG1 isolado das espécies *Halomonas*

Nas bactérias Gram-negativas halófilas, um aumento na concentração de sal corresponde à diminuição de fosfatidiletanolamina (PEA) e ao aumento de fosfatidilglicerol (PG) e de difosfatidil glicerol (DPG) (figura 1.7). A regulação da composição de fosfolípidos na membrana celular é também usada pelos microrganismos para ajustar a permeabilidade da membrana em função do aumento da temperatura na célula<sup>31</sup>.

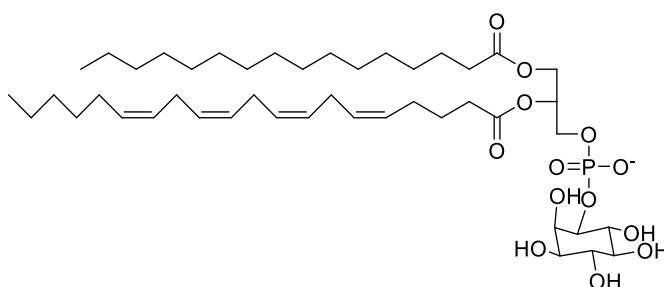
A distribuição de fosfoglicolípidos nas bactérias Gram-negativas é mais limitada comparando com as bactérias Gram-positivas. Apesar dos fosfolípidos PEA, PG e DPG (figura 1.7) serem constituintes maioritários destas bactérias, outros fosfoglicolípidos já foram também descritos<sup>32</sup>.



**Figura 1.7** - Estrutura da fosfatidiletanolamina (PEA), fosfatidilglicerol (PG) e bifosfatidil glicerol (DPG)

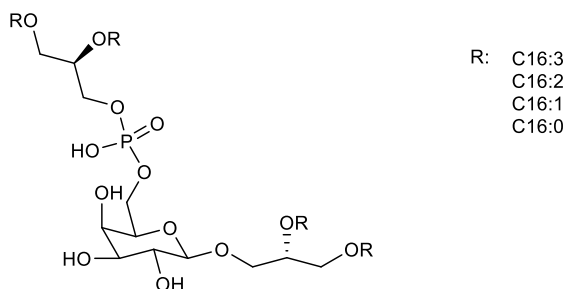
Compostos naturais de fosfoglicogliceróis também podem atuar como moléculas de sinalização. Um dos exemplos é o fosfatidilinositol (figura 1.8), um substrato natural específico para a fosfolipase C. Esta enzima pertence a uma família de enzimas eucarióticas intracelulares com funções importantes no processo de transdução de sinal. As cascatas de sinais, após iniciadas vão originar mudanças celulares como atividade neuronal e proliferação das células<sup>33</sup>.

Vários fosfolípidos com cadeias hidrofílicas foram sintetizados, seguindo o estudo da sua capacidade de inibição da fosfolipase C a partir de *Bacillus cereus*<sup>34</sup>.



**Figura 1.8** - Estrutura do fosfatidilinositol

Vários exemplos de fosfoglicolípidos que exibem funções imunomoduladoras já foram descritos<sup>35</sup>, sendo que os imunoestimulantes representam uma classe emergente de novos fármacos para o tratamento de doenças infecciosas e do cancro. Um novo fosfoglicoglicerol (figura 1.9) com propriedades imunoestimulantes, foi isolado de uma microalga marinha *thalassiosira weissflogii* e caracterizado<sup>36</sup>.



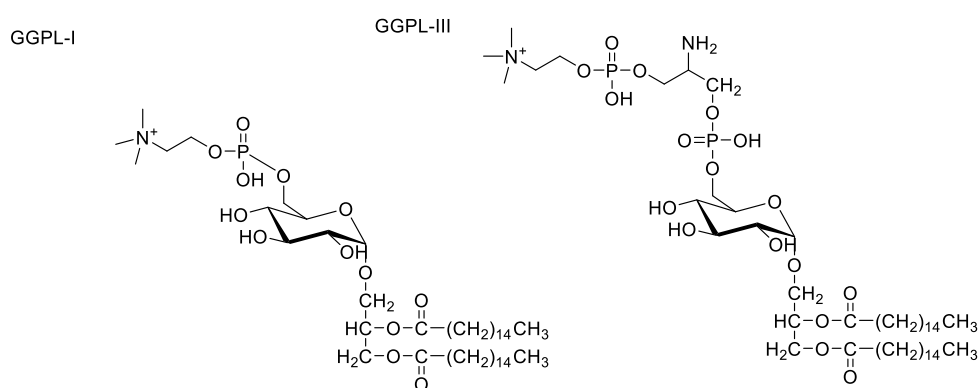
**Figura 1.9** - Estrutura do fosfoglicoglicerol PGDG extraído de *Thalassiosira weissflogii*

Na figura 1.9 está representada a primeira estrutura de um fosfoglicoglicerol derivado de galactose caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN extraído de um habitat marinho. A sua função biológica nesta alga ainda é desconhecida, no entanto, devido à sua baixa abundância é pouco provável que tenha um papel estrutural nas membranas.

Manzo *et al.*<sup>36</sup> sugerem uma reação de trans-fosfatidilação para a origem biosintética deste fosfoglicoglicerol, entre um grupo fosfato doador e um monogalactosildiacilglicerol. Existem poucos exemplos descritos na literatura de estruturas de fosfoglicogliceróis com unidade de galactose isolados a partir de bactérias<sup>37</sup>, sendo que, também existe apenas um exemplo descrito com uma unidade de glucose<sup>38</sup>.

Foi detetado um aumento na concentração deste fosfoglicoglicerol numa fase mais tardia no crescimento celular. Diferentes concentrações de metabolitos durante o crescimento da célula podem ter uma importância biológica por exemplo, associada a funções de sinalização, regulação ou até mesmo, resposta ao stress celular. Nomeadamente numa fase mais tardia em que o aumento dos níveis dos metabolitos acontece simultaneamente com uma diminuição de nutrientes disponíveis. Estas observações despertam interesse numa perspetiva futura de estudar as funções biológicas desta estrutura molecular.

Outras estruturas menos comuns também já foram descritas. É o caso de fosfoglicogliceróis que contém unidade de fosfocolina (GGPL-I e GGPL-III, figura 1.10) isolados de *Mycoplasma fermentans*<sup>39</sup>.



**Figura 1.10** - Estruturas de fosfoglicoglicerolípido que contém fosfocolina (GGPL-I e GGPL-III) isolados de *Mycoplasma fermentans*

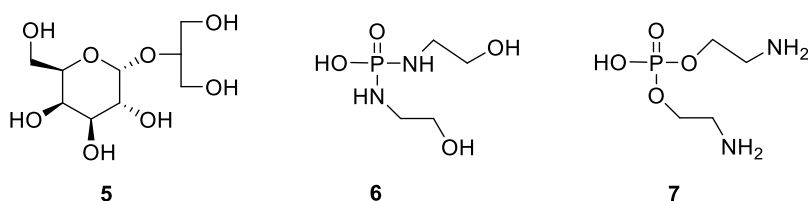
*M. fermentans* é suspeito de ser um patogénico em várias doenças humanas como artrite reumatoide<sup>40</sup> e cofator no vírus da sida. Novos fosfoglicoglicerolípido foram isolados de uma cultura de células-T infetadas com *M. fermentans*. GGPL-I e GGPL-II são os componentes

maioritários e também os principais imunodeterminantes da *M. fermentans*. Para determinar a configuração absoluta deste novo aminoglicoglicerolípido, os dois diastereoisômeros possíveis foram sintetizados usando (S)-GGPLII e (R)-GGPLII.

Para além dos exemplos apresentados previamente, são escassos os exemplos de estruturas de fosfoglicogliceróis descritos na literatura. Ainda assim, a natureza constitui uma fonte diversificada de produtos naturais sendo que os glicogliceróis e os fosfoglicogliceróis são dois dos exemplos de estruturas que podem ser encontradas em fontes marinhas. Mais recentemente, em trabalho desenvolvido no grupo de investigação, um novo fosfoglicoglicerol com propriedades anti-microbianas foi isolado de *Asparagopsis armata*.

A estrutura exata é ainda desconhecida, mas a análise por  $^{13}\text{C}$  RMN, sugere a presença de uma unidade de açúcar, glicerol e etanolamina. A confirmação da presença da unidade de etanolamina foi feita através de  $^1\text{H}$  RMN. O espectro de  $^{31}\text{P}$  RMN demonstrou a presença de um átomo de fósforo na estrutura do composto. A presença de uma unidade de galactose e de glicerol foi obtida por espectroscopia de raio-X num derivado resultante de uma reação de acetilação e que permitiu ainda a determinação da configuração  $\alpha$  na posição anomérica do açúcar. Em todas as tentativas de derivatização, nomeadamente reação de acetilação ou benzoilação, o fragmento do fósforo não foi identificado, por possível hidrólise.

A conjugação destes dados obtidos sugere a presença de uma unidade de glicoglicerol (**5**) derivada de galactose ligada a um grupo de etanolamina fosfoamidato ou fosfato (**6** e **7**, respetivamente), figura 1.11. Devido à sua atividade biológica e à ausência de estruturas semelhantes da literatura, a síntese de uma biblioteca de compostos que juntem estes fragmentos despertou interesse.

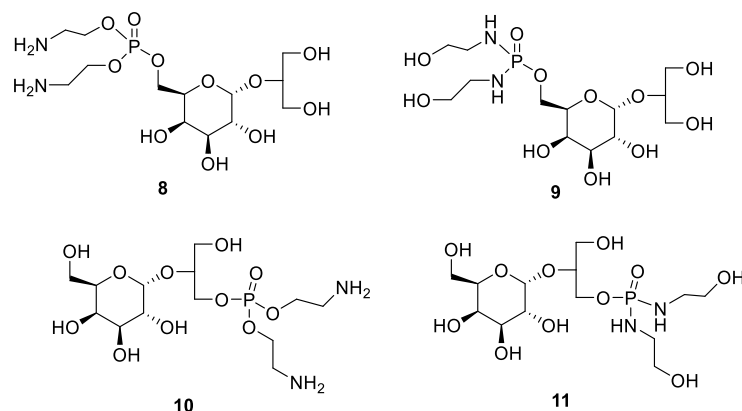


**Figura 1.11** - Fragmentos 5,6 e 7 presentes na estrutura de um novo fosfoglicoglicerol isolado de *A. armata*

Na figura abaixo estão representadas quatro estruturas possíveis resultantes da combinação dos fragmentos **5**, **6** ou **7**.

Apesar das ligações fosfato-açúcar serem mais comuns no carbono C6 (**8** e **9**), também é possível uma ligação do fosfato ao glicerol através do carbono C1 (**10** e **11**). Quanto ao

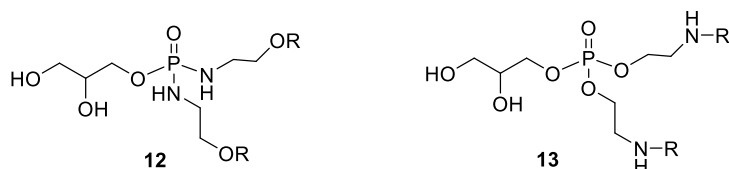
fragmento da etanolamina, este pode estar ligado ao fósforo pelo átomo de azoto, resultando nos fosfoamidatos **9** e **11** ou através do átomo de oxigênio formando os fosfatos **8** e **10**. A preparação desta biblioteca de compostos envolve várias estratégias sintéticas.



**Figura 1.12** - Estruturas possíveis para um novo fosfoglicérol isolado de *A. Armata*

Para os compostos **8** e **9**, é necessário a preparação do glicoglicérol **5**, do fosfoamidato e do fosfato **6** e **7**, respetivamente. Uma reação de acoplamento resulta no produto final pretendido. A ligação do fósforo ao açúcar pelo carbono C6 é favorável pela existência do grupo hidroxilo primário mais acessível.

Nas estruturas **10** e **11**, em que o átomo de fósforo está diretamente ligado ao glicérol, a estratégia sintética envolve a preparação de um glicérolfosfoamidato **12** ou glicérolfosfato **13** (figura 1.13).



**Figura 1.13** - Estruturas de glicérolfosfoamidato **12** e glicérolfosfato **13**

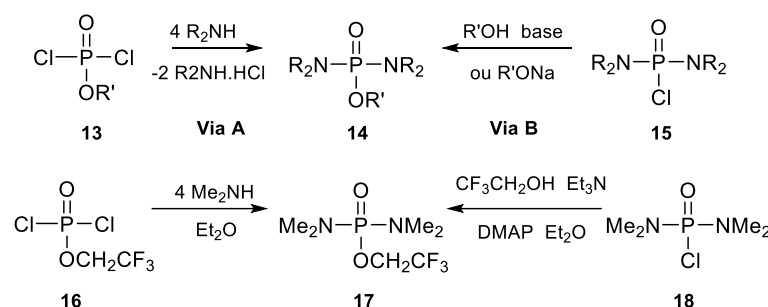
## 1.5. Abordagens sintéticas para a preparação de fosfatos e fosfoamidatos

Algumas abordagens sintéticas para a preparação de fosfatos e fosfoamidatos estão descritas na literatura<sup>41–43</sup>. No entanto, no caso das estruturas **10** e **11** que envolvem a preparação de glicérolfosfatos ou glicérolfosfoamidatos, os exemplos descritos na literatura são limitados.

A maioria dos protocolos descritos envolve a utilização de tricloreto de fosforilo como material de partida para a preparação de fosfatos e fosfoamidatos<sup>41</sup>. A reação ocorre em meio



básico na presença de um álcool ou amina em quantidades estequiométricas para a formação do cloreto de fosfodiamidato **15** e **18** ou dicloreto de fosfato **13** e **16** (figura 1.14). Estes são por sua vez substratos quer pela via sintética A ou B para a preparação dos fosfodiamidato **14** e **17**. Esta foi a metodologia descrita por Timperley *et al.*<sup>41</sup> para a preparação do fosfamidato **14** através do fosfodiamidato **15** ou dicloreto de fosfato **13** (figura 1.14).



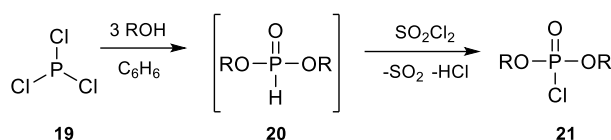
**Figura 1.14** - Vias sintéticas para a preparação de fosfoamidatos

Um dos problemas associados aos cloretos de fosfodiamidatos é a sua deficiência de reatividade em substituições nucleófilas. Isto deve-se sobretudo à presença de dois grupos amina eletro-doadores que reduzem a eletrofilicidade do fósforo. Este problema é facilmente ultrapassado com a utilização de um catalisador como DMAP.

Os dialquilo fosfatos são uma das classes de compostos mais importantes de reagentes orgânicos com fósforo. São constituídos por um átomo de cloro que pode ser substituído por uma variedade de nucleófilos originando diversas estruturas. Os produtos resultantes da reação de substituição nucleófila são uma classe de compostos com aplicações em várias áreas e por isso, despertam interesse na indústria. Por esta razão, existe a necessidade de desenvolver vias sintéticas sustentáveis para a preparação deste tipo de estruturas.

Na preparação de dialquilo fosfatos, a via sintética envolvida é muito semelhante aos fosfoamidatos. Vários exemplos descritos na literatura utilizam  $\text{POCl}_3$  numa reação de disubstituição nucleofílica na presença de base.

Um método *one-pot* partindo de  $\text{PCl}_3$  pode ser utilizado para preparar fosfocloridatos dialquilo<sup>41</sup> (figura 1.15). Fazendo reagir três moles de álcool num solvente inerte, obtém-se o intermediário dialquilo *H*-fosfonato **20**. Quando o objetivo é prosseguir com uma reação de substituição nucleofílica como na preparação de glicerofosfatos, é necessário adicionar um bom grupo de saída. O intermediário dialquilo fosfonato é então tratado com  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ , para obtenção do composto clorado correspondente **21**.

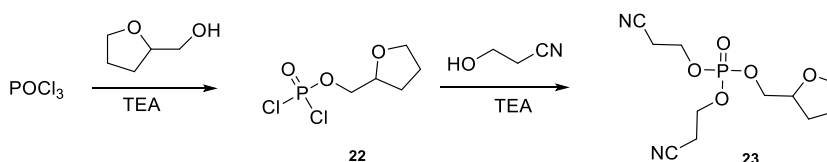


**Figura 1.15** - Uma via sintética para a preparação de dialquilo fosfocloridatos

A síntese industrial de dialquilo *H*-fosfonato<sup>44</sup> ocorre segundo o passo reacional descrito no esquema acima. Estes tipos de compostos são amplamente utilizados como materiais de partida em síntese orgânica, nomeadamente nas reações de condensação de Kabachnik–Fields e aza-Pudovik<sup>45</sup>. Uma vez que os compostos dialquilo *H*-fosfonato podem conter uma variedade de substituintes alcóxido, estes constituem intermediários valiosos na preparação de derivados organofosfatos quirais<sup>46</sup>.

A enorme quantidade de HCl gerada nesta reação diminui a eficiência atômica, torna-a pouco viável na síntese de dialquilo fosfocloridatos com grupos alcóxido sensíveis em meio ácido (exemplo: di-*tert*-butil-fosfocloridato), uma vez que a dealquilação baixa o rendimento e dificulta a purificação.

Uma das alternativas descritas<sup>43</sup> para preparar fosfatos, consiste em inverter a ordem das reações e fazer reagir POCl<sub>3</sub> com um mole de álcool originado o intermediário diclorofosfato **22** (figura 1.16). De seguida em meio básico, o intermediário dicloro reage com duas moles de álcool ou amina para a preparação de fosfatos e fosfoamidatos, respetivamente.



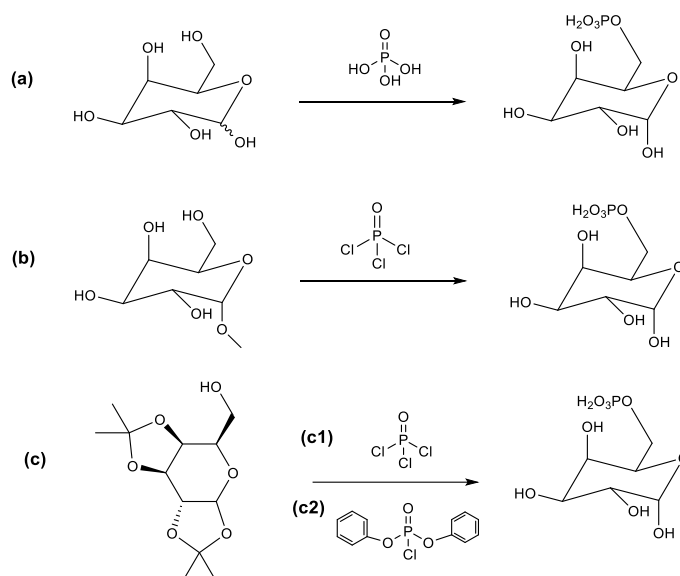
**Figura 1.16** - Uma via sintética descrita para a preparação de fosfatos<sup>43</sup>

## 1.6. Galactose Fosfatos

Os fosfatos de açúcares são ésteres do ácido fosfórico e monossacarídeo e ocorrem como intermediários no metabolismo dos carboidratos<sup>47</sup>. Os fosfatos de galactose não são tão comuns assim como com a frutose. Estes compostos estão presentes em tecidos de plantas, como componentes de polissacarídeos, glicolípidos ou glicoproteínas, mas na sua forma livre os resíduos de galactose podem ser tóxicos para as plantas.

Este tipo de compostos ocorre maioritariamente em duas formas estruturais, D-galactose-1-fosfato, Gal1 e D-galactose-6-fosfato, Gal6.

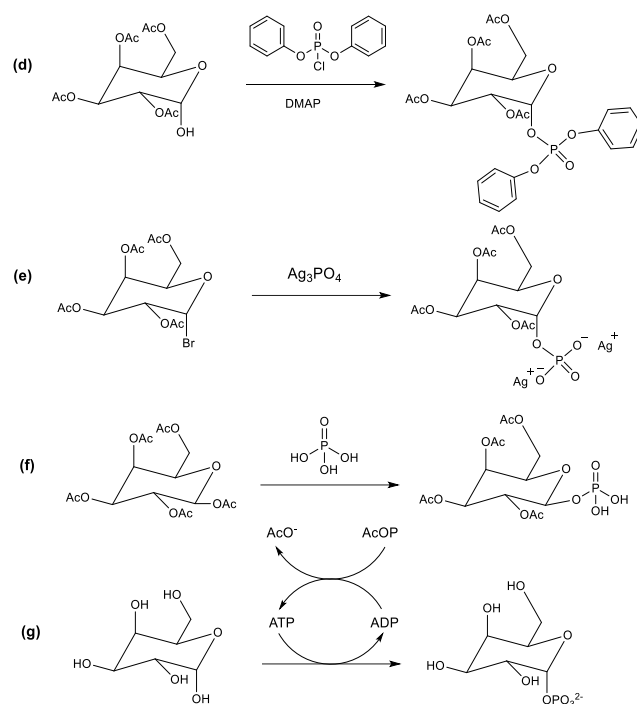
Para a preparação de D-galactose-6-fosfato Gal6 também existem algumas alternativas sintéticas descritas (figura 1.17): a fosforilação de (a) D-galactose com ácido fosfórico<sup>48</sup>, (b) de metil  $\alpha$ -D-galactose com  $\text{POCl}_3$ <sup>49</sup>, (c1) e de di-O-isopropilideno-D-galactopiranosose com  $\text{POCl}_3$ <sup>50</sup> ou (c2) clorodifenilfosfato.



**Figura 1.17** - Alguns exemplos de vias sintéticas descritas para a preparação de galactose-6-fosfatos

$\alpha$ -D-galactose-6-fosfato está envolvido como metabolito ou componente de uma enorme variedade de organismos. Por exemplo, nas espécies *Staphylococcus aureus*<sup>51</sup> e *streptococci*<sup>52</sup>, participa como intermediário no metabolismo da lactose e da D-galactose. Uma das vias mais simples de preparação deste composto envolve uma reação de fosforilação da galactose com ácido fosfórico ((a)-figura 1.17). Esta reação origina uma mistura de isômeros 3- 5- e 6-fosfato que podem ser separados e isolados.

A Gal1 pode ser preparada seguindo algumas vias sintéticas descritas (figura 1.18): (d) uma fosforilação de tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-galactopiranosil com difenil clorofosfato<sup>53</sup> (e) fosforilação de brometo de tetra-O-acetil- $\alpha$ -galactosil com  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ <sup>54</sup> (f) reagindo penta-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosilo com ácido fosfórico<sup>55</sup> (g) ou por fosforilação enzimática da D-galactose com galactocinase e ATP na presença de PEP ou fosfato de acetilo<sup>56</sup>.

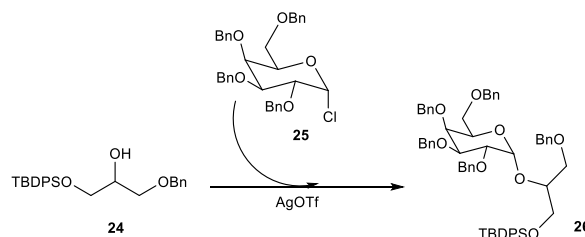


**Figura 1.18** - Alguns exemplos de vias sintéticas descritas para a preparação de galactose-1-fosfatos

Sendo que, duas das estruturas propostas para a biblioteca dos fosfoglicogliceróis a sintetizar, são derivadas de Gal6, os procedimentos mencionados em cima são alternativas para a preparação destes compostos. Para ambos, é necessária uma proteção seletiva dos grupos hidroxilo do açúcar, seguida de uma halogenação na posição anomérica para uma posterior reação de acoplamento com a unidade de glicerol previamente protegida nos grupos hidroxilo primários.

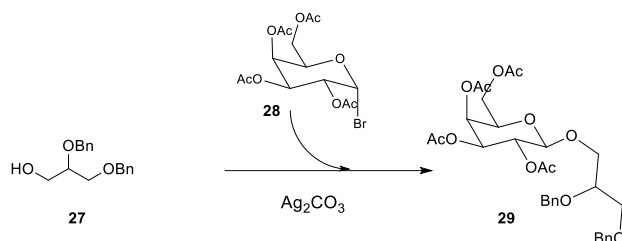
## 1.7. Reações de acoplamento

A preparação de fosfoglicogliceróis requer a proteção seletiva prévia, não só dos grupos hidroxilo da unidade de açúcar, mas também do grupo hidroxilo primário do fragmento do glicerol, é fundamental. Existem diversos procedimentos descritos para a proteção dos grupos hidroxilo de açúcares. Welzel *et al.*<sup>57</sup> sugerem uma via sintética para a preparação de um derivado de glicoglicerol utilizando o açúcar benzilado **24** como doador glicosílico e triflato de prata para catalisar a reação de acoplamento (figura 1.19).



**Figura 1.19** - Estratégia sintética utilizada por Welzel *et al.* para a reação de acoplamento entre a unidade de açúcar e uma unidade de glicerol

Mannock *et al.*<sup>58</sup> descreveram um procedimento semelhante, utilizando o método de Koenigs–Knorr (figura 1.20) para a reação de condensação entre o açúcar e o glicerol. A reação ocorre sempre na presença de um agente secante, sendo o uso de *molecular sieves* um procedimento comum, para evitar que ocorra hidrólise no açúcar, que é mais sensível devido a presença de um bom grupo de saída.

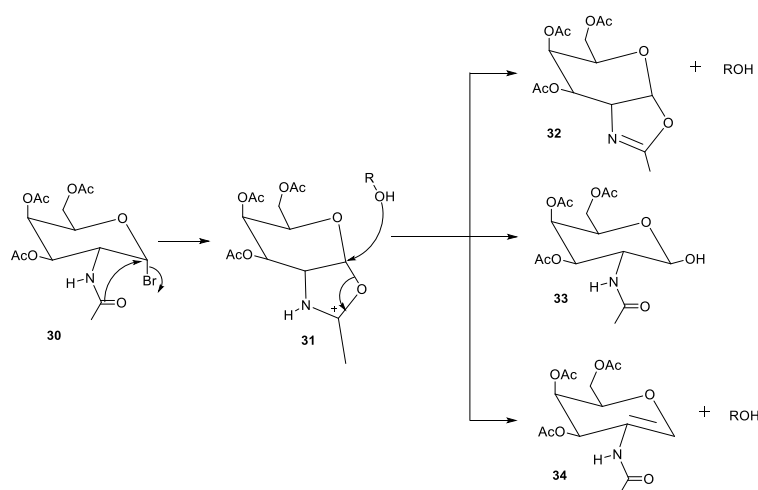


**Figura 1.20** - Estratégia sintética utilizada por Mannock *et al.* para a reação de acoplamento entre a unidade de açúcar e uma unidade de glicerol

Para além dos catalisadores de prata, existem também exemplos descritos de outros catalisadores com aplicações em reações de condensação entre uma unidade de açúcar e o glicerol. A utilização de sais de mercúrio como promotores, tais como  $\text{Hg}(\text{CN})_2$ , foi introduzida por Helferich e também é comum neste tipo de reações<sup>59, 60</sup>.

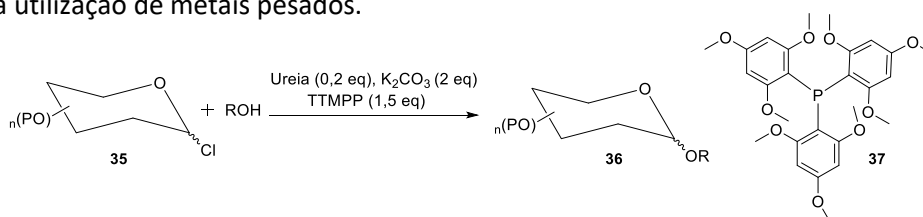
Sendo uma reação estereoseletiva, a configuração do centro anomérico do produto resultante deste acoplamento, vai depender de vários fatores. A escolha dos grupos protetores do açúcar é fundamental para a obtenção da configuração pretendida. A utilização de grupos protetores vizinhos participantes, como o grupo acetilo ou benzoílo, na posição C2, promove o acoplamento 1,2-trans com o aceitador, e consequentemente a formação preferencial do anômero  $\beta$  enquanto que grupos não participantes como o grupo benzilo promovem a formação de uma mistura de produtos  $\alpha$  e  $\beta$ <sup>61</sup>.

Na figura 1.21 está representado o mecanismo da reação de Koenigs-Knorr, um dos processos de glicosilação mais antigos e o ponto de partida para a síntese de glicosídeos. Este processo, consiste no acoplamento entre haletos de acetoamido açúcares, como doadores e compostos aceitadores reativos como alcoóis primários, na presença de  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{AgOTf}$ . A reação é utilizada na preparação de dissacarídeos  $\beta$ -(1-6). A presença de um halogéneo ligado ao centro anomérico permite a formação de um intermediário carbocatião anel de cinco membros que bloqueia a face  $\alpha$  do açúcar doador favorecendo a formação da estrutura  $\beta$ <sup>61</sup>.



**Figura 1.21** - Mecanismo da reação de Koenigs–Knorr e produtos laterais

Num artigo de 2016, Sun *et al*<sup>62</sup> estudam o efeito na estereoseletividade da reação de glicosilação de Koenigs-Knorr catalisada pela ureia. Os açúcares doadores utilizados são protegidos com grupos benzilo não participantes, logo, não se forma o intermediário catião. A utilização de várias estruturas de doadores e de aceptadores é descrita, bem como, o seu efeito na configuração do produto da glicosilação. Na maioria dos casos, a formação da configuração  $\alpha$  é favorecida. No entanto, a adição de fosfinas à reação, teve um efeito estéreo na sua estereoseletividade (figura 1.22). A adição da tri-(2,4,6-trimetoxifenil)-fosfina (TTMPP) **33**, triplicou o rácio de  $\alpha/\beta$  (12.6:1) tornando as reações de glicosilação, previamente pouco estereoseletivas, em reações altamente  $\alpha$ -seletivas. Em contraste com os métodos tradicionais de glicosilação Koenigs-Knorr, este método descrito é  $\alpha$ -seletivo e a catálise não envolve a utilização de metais pesados.



**Figura 1.22** - Glicosilação seletiva na presença de TTMPP **33** descrita por Sun *et al*.

Os grupos protetores dos grupos hidroxilo primários do glicerol também têm um efeito no produto da reação. Por exemplo, quando protegidos com grupos éter, os aceptadores são muito mais reativos do que quando protegidos com grupos éster<sup>63</sup>.

A escolha do solvente também pode influenciar a estereoseletividade da reação. Existem exemplos descritos na literatura sobre a capacidade do acetonitrilo e do éter etílico, bloquearem as faces  $\alpha$  e  $\beta$ , respetivamente, do intermediário carbocátion. No primeiro caso, é conhecido como o 'efeito nitrilo'<sup>64</sup> e o segundo como o 'efeito éter'<sup>65</sup>.



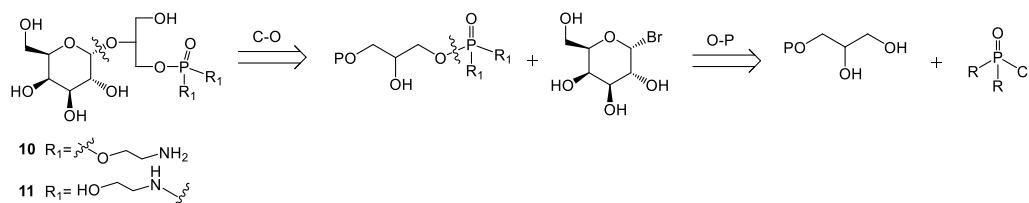
## 2. Discussão de Resultados

### 2.1. Preâmbulo

O trabalho realizado no âmbito desta tese teve como objetivo a preparação de duas estruturas possíveis para um fosfoglicoglicerol isolado de *Asparagopsis armata*, pelo grupo de investigação. O composto isolado foi caracterizado por  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$  RMN, no entanto, esta análise não foi conclusiva quanto à estrutura absoluta do mesmo. Deste modo iniciou-se um projeto de investigação com vista à síntese de várias estruturas de fosfoglicogliceróis para comparação com o produto de origem natural.

As estruturas delineadas diferem entre si nas posições da ligação das várias unidades de glicerol, galactose, etanolamina e ácido fosfórico. De modo a desenhar um plano sintético para a preparação destas estruturas, foi feita a análise retrosintética representada no esquema 2.1.

Para as estruturas **10** e **11**, em que o fósforo está ligado ao glicerol, começando por uma desconexão C-O que resulta em dois sintões relativos à  $\alpha$ -Galactose bromada e a um glicerofosfato ou glicerofosfoamidato. Por último, é feita a desconexão O-P, obtendo-se assim, os sintões equivalentes ao cloreto de diaminofosfato ou ao clorofosfato de dietanolamina e ao glicerol protegido num dos grupos hidroxilo primários.



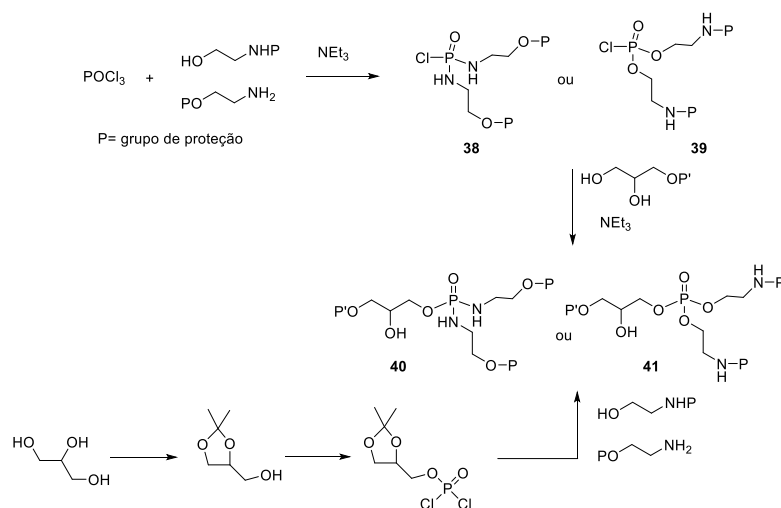
**Esquema 2.1** - Análise retrossintética das estruturas a sintetizar

A síntese destes compostos pode então ser dividida em três partes: a derivatização do glicerol, descrita na secção 2.2, com o objetivo de preparar um glicerofosfato ou glicerofosfoamidato, a derivatização da  $\alpha$ -Galactose descrita na secção 2.3 e ainda a síntese final dos fosfoglicogliceróis em que se procede ao acoplamento dos dois fragmentos anteriores, descrita na secção 2.4.

Para a preparação dos glicerofosfoamidato e glicerofosfato **40** e **41** foram propostas duas vias com início na adição da etanolamina apropriadamente protegida, ao  $\text{POCl}_3$  na presença de uma base como trietilamina para a obtenção dos intermediários cloretos de fosfoamidato

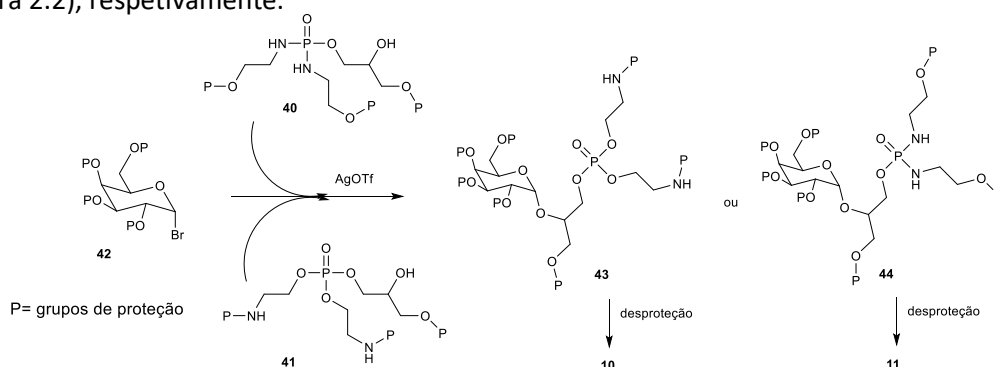


**38** e fosfato **39** correspondentes. O acoplamento destes intermediários com o glicerol pode ocorrer numa reação de Mitsunobu. O acoplamento deve ocorrer no grupo hidroxilo primário uma vez que está mais acessível. Em alternativa, começando por proteger o glicerol, seguindo-se uma reação com  $\text{POCl}_3$  e etanolamina ou derivados, também é possível preparar os glicerofosfoamidato e glicerofosfato **40** e **41**, respetivamente. Ambas as vias originam misturas racémicas que, após reação de acoplamento com uma unidade de açúcar, formam-se diastereoisómeros que podem ser separados.



**Figura 2.1** - Estratégias sintéticas para a preparação dos glicerofosfoamidato e glicerofosfato **40** e **41** respetivamente

Para o acoplamento entre a unidade de açúcar e o composto de fósforo, pode ser utilizado um procedimento de Koenigs–Knorr catalisado por compostos de prata, mencionado previamente na introdução. Para a reação de acoplamento, é necessária uma preparação prévia de uma unidade de galactose protegida nos grupos hidroxilo e halogenada na posição anomérica. Foram utilizados diferentes grupos de proteção, com o objetivo de estudar o efeito na configuração do produto da reação de acoplamento. Do acoplamento, resultam os fosfoglicogliceróis protegidos **43** e **44** que após desproteção, originam as estruturas **10** e **11**. (figura 2.2), respetivamente.

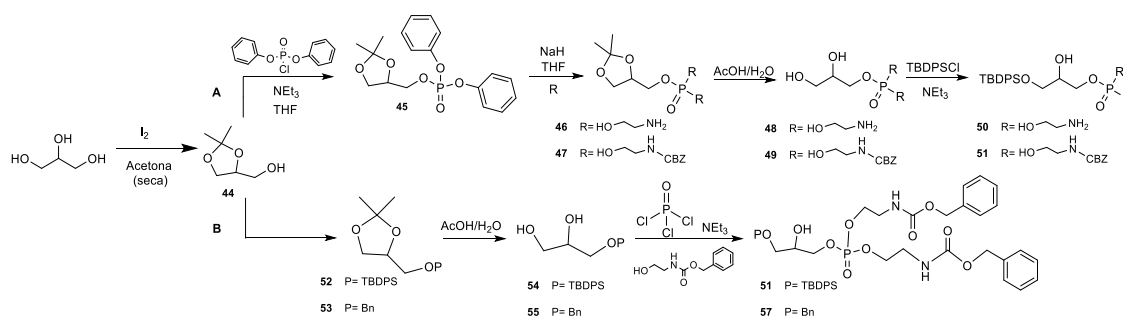


**Figura 2.2** - Estratégia sintética para a reação de acoplamento entre a unidade de açúcar **42** e o glicerofosfoamidato e glicerofosfato **40** e **41**, respetivamente

## 2.2 Reações de derivatização do glicerol

### 2.2.1. Preparação de glicerofosfato e glicerofosfoamidato

Como foi referido anteriormente, a estratégia de síntese dos fosfoglicogliceróis **10** e **11** envolve a preparação de um intermediário glicerofosfato e glicerofosfoamidato, respetivamente. Para isso, duas vias (A e B) foram estudadas e descritas no esquema 2.2. A principal diferença entre elas, consiste na ordem das reações. Após a proteção de dois grupos hidroxilo do glicerol, através da formação do cetel **44**, seguindo na via A, o grupo hidroxilo primário é protegido reagindo com o cloreto de difenilfosfato para a obtenção do composto **45**. Segue-se uma reação de substituição nucleofílica com etanolamina protegida no átomo de azoto ou oxigénio, obtendo as estruturas **46** ou **47**, respetivamente. A abertura do acetal ocorre em meio ácido, seguida da proteção do grupo hidroxilo primário com TBDPS. Durante a reação de proteção, ocorre a formação de um anel de 5 membros com o átomo de fósforo, dificultando a obtenção do produto desejado **50** ou **51**. Deste modo foi desenvolvida uma via sintética alternativa B, com menos passos reacionais, em que a reação com o reagente de fósforo ocorre numa fase mais adiantada da síntese, após a proteção do grupo hidroxilo primário com TBDPS ou Bn. Para além disso, esta via sintética também permite evitar perdas de rendimento associadas ao processo de purificação de compostos fosfatados.

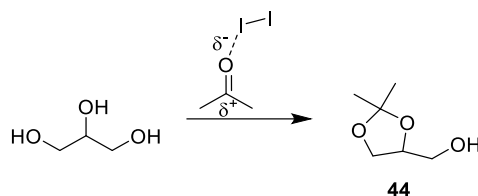


**Esquema 2.2** - Abordagens sintéticas para a preparação do glicerofosfato e glicerofosfoamidato

#### 2.2.1.1. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol **44**

A primeira reação é comum para ambas as vias A e B e consiste na proteção de dois grupos hidroxilo do glicerol através da formação do 1,3-dioxolano (**44**) na presença de uma quantidade catalítica de iodo. O iodo é utilizado em síntese orgânica também pela sua capacidade de interagir com solventes orgânicos como a acetona. No entanto, a sua utilização como reagente ou agente catalítico ainda é limitada a certas classes de reações orgânicas. É conhecida que a interação entre sistemas como acetona-iodo resulta numa disposição da

densidade eletrônica favorável a ataques nucleófilos (esquema 2.3). Este método foi utilizado por Kartha<sup>66</sup> para a preparação de compostos derivados O-isopropilideno de carboidratos com bons rendimentos.



**Esquema 2.3** - Esquema reacional da síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol **44**.

Diversas condições reacionais foram testadas, variando a temperatura, a duração e a concentração catalítica de iodo. Apesar de nenhuma das condições se ter revelado ótima, os rendimentos com condições de temperatura mais suaves (t.a.) foram superiores (tabela 1).

**Tabela 1** - Rendimentos obtidos para diferentes condições reacionais

I <sub>2</sub> (g)	Acetona (mL)	Glicerina (g)	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	η
0,34 (0,25 eq)	5	0,50	2	t.a.	<b>83%</b>
0,34 (0,25 eq)	5	0,50	2.30	t.a.	<b>67%</b>
0,34 (0,25 eq)	5	0,50	2	t.a.	<b>60%</b>
0,27 (0,10 eq)	10	1,00	20	t.a.	<b>51%</b>
0,42 (0,15 eq)	10	1,00	2.30	reflx	<b>47%</b>
0,21 (0,15 eq)	5	0,52	2	reflx	<b>40%</b>

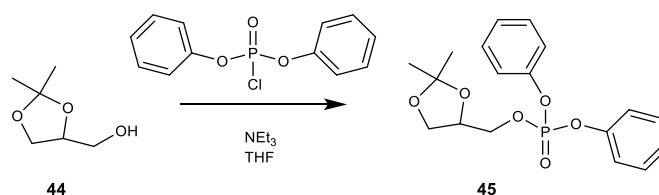
No entanto, ao final de alguns ensaios, surgiram alguns problemas de perdas de rendimento e, portanto, optou-se pela utilização do composto **44** comercial no passo seguinte da via sintética.

A obtenção do produto desejado foi confirmada por <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN. No espectro de <sup>1</sup>H, verifica-se a presença de dois singletos a 1,39 e 1,46 ppm correspondentes aos grupos metilo do anel dioxolano. Adicionalmente, numa zona mais desblindada, aproximadamente entre 4,3 e 3,6 ppm estão os sinais dos prótons do esqueleto do glicerol. Através de espectroscopia de <sup>13</sup>C RMN, é possível confirmar a formação do anel 1,3 dioxolano, através dos sinais a 109 ppm e a 76 ppm que correspondem ao carbono quaternário e ao carbono terciário,

respetivamente. Quanto aos grupos metilo, estes apresentam sinais a 26 e 25 ppm. O produto obtido foi utilizado no passo reacional seguinte sem qualquer processo de purificação.

#### 2.2.1.2. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato **45**

Após a formação do dioxolano, a primeira reação da via A para a preparação do glicerofosfato e glicerofosfoamidato previa a proteção do grupo hidroxilo primário com um reagente de fósforo. Esta reação foi feita em meio básico na presença de cloreto de difenilfosfato. O objetivo desta reação é a preparação de uma estrutura de glicerol protegida, em dois dos átomos de oxigênio com a formação do dioxolano e protegida no outro átomo de oxigênio com um substituinte fosfato com dois bons grupos de saída para uma futura reação de substituição nucleofílica. Um dos cuidados a ter neste passo reacional está associado com a quantidade de HCl que é gerado na reação e que pode ser suficiente para destruir o grupo cetal. Por esse motivo verificou-se que os melhores rendimentos foram obtidos utilizando 2.2 eq de trietilamina.



**Esquema 2.4** - Esquema reacional da síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato **45**

Este procedimento foi utilizado por Wooley e Eibl<sup>67</sup> para a fosforilação de diglicéridos com uma diferença no reagente de fósforo envolvido. No presente trabalho foi utilizado o cloreto de difenil fosfato ao invés do tricloreto de fósforo, de forma a reduzir a quantidade de HCl libertada na reação e consequentemente diminuir o risco de abertura do cetal.

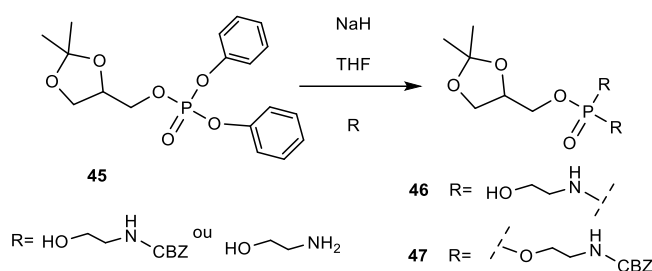
A confirmação da obtenção do produto pretendido com um rendimento de 40% foi novamente feita por <sup>1</sup>H RMN onde se verificou a existência do cetal através dos sinais singuleto a 1,37 e 1,42 ppm, assim como aparecimento de sinais na zona dos aromáticos correspondentes ao prótons dos grupos fenilo. No entanto, ao fim de alguns ensaios verificou-se por espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN, a abertura parcial do cetal num rácio de 5:3. Este seria um primeiro indício de que o grupo cetal é bastante sensível em meio ácido e que os traços de acidez do CDCl<sub>3</sub>, solvente utilizado nos espetros, eram suficientes para destruir o grupo cetal.

### 2.2.1.3. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil dietanolamina fosfato **46** (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-etanolamina) fosfato **47**

Seguindo a via A, a próxima reação consistiu numa substituição nucleofílica  $S_N2$ . Para a preparação do glicerofosfato, o nucleófilo utilizado foi um reagente de etanolamina protegido no átomo de azoto com um grupo CBZ, N-Z-Etanolamina, enquanto que a preparação do glicerofosfoamidato envolveu a utilização de etanolamina.

Para a reação com etanolamina, não foi utilizada uma base no meio reacional, uma vez que o ataque ocorreria pelo átomo de azoto, sendo este mais nucleófilo. No entanto, a reação não ocorreu com estas condições reacionais.

Quando o nucleófilo utilizado é N-Z-Etanolamina, a reação ocorre em meio básico e o composto **47** é isolado com um rendimento baixo (15%). A reação foi incompleta, uma vez que foi recuperado material de partida **45** numa das frações isoladas na coluna de cromatografia.



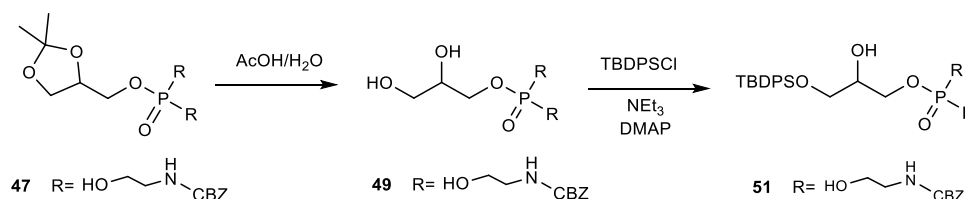
**Esquema 2.5** - Esquema reacional da síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil dietanolamina fosfato **46** (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-Etanolamina) fosfato **47**

Mais uma vez, a identidade do produto foi confirmada por  $^1\text{H}$  RMN. Embora o produto tenha sido purificado por cromatografia em coluna com sílica *flash*, em alguns dos casos, o espectro apresenta sinais da N-Z-Etanolamina e do composto pretendido **47** devido à semelhança de  $R_f$  entre estes compostos. A presença dos sinais singuleto correspondentes aos grupos metilo do dioxolano a 1,35 e 1,43 ppm, indicam que o grupo cetil foi preservado, resistindo às condições de purificação resultantes da acidez da sílica, e à acidez do solvente deuterado. Os sinais dos prótons do esqueleto do glicerol com desvios químicos a 4,3, 4,02-4,08 e a 3,67 ppm e com um integral correspondente a 5 estão presentes. Para além destes sinais, existem ainda três sinais da cadeia da N-Z-Etanolamina com integrais de 4 prótons, correspondentes ao produto disubstituído **47**.

Os prótons do CH<sub>2</sub> diretamente ligado ao anel aromático são os mais desblindados (para além dos aromáticos) com desvio químico de 5,13 ppm. Quanto aos prótons do esqueleto etanolamina, identifica-se um sinal a 3,48 ppm do grupo metileno (CH<sub>2</sub>) ligado ao átomo de azoto e um sinal a 4,14 que corresponde ao grupo metileno adjacente ao átomo oxigénio. Como foi referido anteriormente, devido à semelhança de rf, em alguns ensaios, o espectro apresenta também sinais do reagente de etanolamina numa proporção de 1:3.

#### 2.2.1.4. Síntese de 3-((tert-butildifenil silil)oxi)propano1-di(N-Z-etanolamina)fosfato **51**

O passo seguinte, na via sintética A consiste na abertura do cetal em meio ácido. Esta reação foi descrita utilizando condições ácidas suaves como uma solução de ácido acético em água. Começando com uma solução de AcOH/H<sub>2</sub>O (3:1, v/v) e aumentando a acidez do meio reacional através da adição gradual de AcOH até se encontrar a proporção ótima (6:1) para a abertura do cetal, foi possível obter a estrutura **49** caracterizada por <sup>1</sup>H RMN.

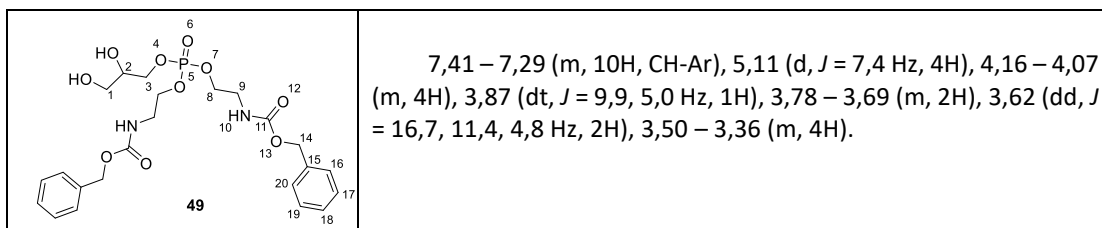


**Esquema 2.6** - Esquema reacional para a preparação composto **51**

Através de <sup>1</sup>H RMN, verificou-se o desaparecimento dos sinais de singuleto correspondentes aos grupos metilo do cetal. Uma vez que o anel do dioxolano é destruído, os prótons correspondentes ao esqueleto do glicerol sofrem blindagem e por isso, os seus desvios químicos surgem a campo mais alto comparativamente aos prótons correspondentes do composto **47**. A formação da estrutura diol também é confirmada por espectroscopia de IV, devido ao aparecimento da banda larga a 3387 cm<sup>-1</sup> relativa as vibrações das ligações O-H. Este composto foi utilizado no passo reacional seguinte sem qualquer passo de purificação.

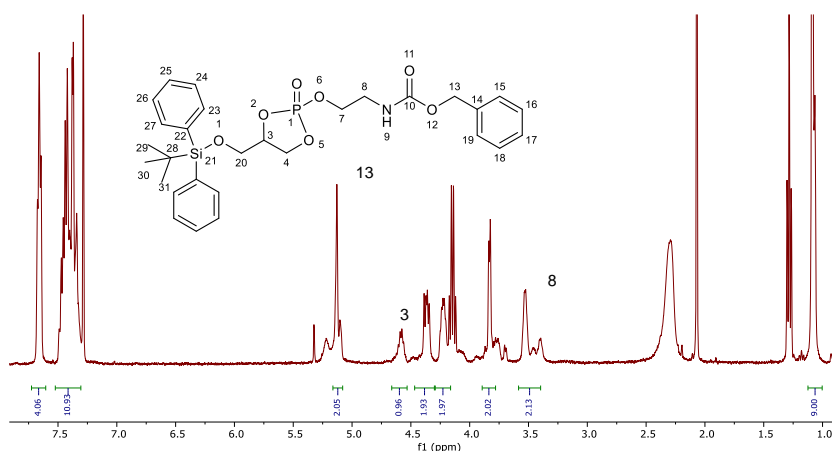
**Tabela 2** - Caracterização dos compostos **47** e **49**; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Composto	<sup>1</sup> H RMN
<p style="text-align: center;"><b>47</b></p>	<p>7,43 – 7,27 (m, 10H-Ar), 5,12 (s, 4H, H19), 4,30 (q, J = 5,3 Hz, 1H, H4), 4,14 (t, 4H, H13), 4,04 (t, J = 6,0 Hz, 3H, H5, H8), 3,81 – 3,74 (m, 1H, H8'), 3,54 – 3,41 (m, 4H, H14), 1,42 (s, 3H, H6), 1,35 (s, 3H, H7).</p>



Após preparação da estrutura **49**, o último passo reacional na via sintética da preparação do glicerofosfato **51** consiste numa reação de proteção do grupo hidroxilo primário. Como está representado no esquema acima, o grupo de proteção escolhido para esta reação foi o TBDPS. Para esta reação, foi utilizada uma base orgânica, como trietilamina, em excesso (3 eq) e uma quantidade catalítica de DMAP. Utilizou-se apenas 1,2 eq de TBDPSCI e a reação deveria ocorrer no grupo hidroxilo primário, uma vez que este está mais disponível e há menos efeito estéreo devido ao afastamento em relação ao fósforo.

O produto desta reação foi purificado em coluna de cromatografia com sílica *flash* onde foi isolada a estrutura **67** caracterizada por  $^1\text{H}$  RMN na figura abaixo. Este anel de 5 membros é formado através de uma ciclização intramolecular com libertação de N-Z-Etanolamina no meio reacional.



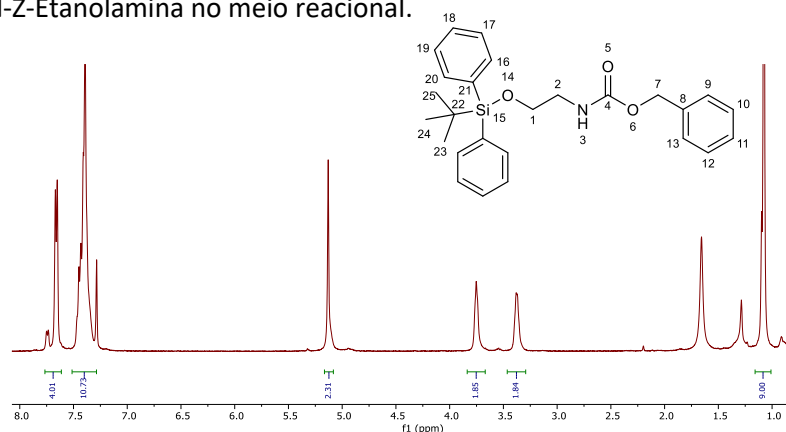
**Figura 2.3** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN da estrutura intermediário cíclico **67** (400 Hz,  $\text{CDCl}_3$ )

A confirmação de identidade da estrutura foi feita através de espectroscopia de  $^1\text{H}$  RMN. Na zona mais desblindada do espectro, um conjunto de sinais com um integral total de 15 prótons, sendo que 10 correspondem aos dois anéis aromáticos do grupo de proteção TBDPS enquanto que os restantes 5 correspondem a um grupo N-Z-Etanolamina. Quanto aos restantes sinais  $\text{CH}_2$ , estes apresentam desvios a 5,16-5,08 ppm, 4,29-4,16 ppm e 3,48 ppm para o  $\text{CH}_2$ -13,  $\text{CH}_2$ -7 e  $\text{CH}_2$ -8, respetivamente. A cada um destes sinais corresponde um integral de 2 prótons, evidenciando a formação de uma estrutura monosubstituída com N-Z-

Etanolamina. Para o sinal CH-3, este apresenta um desvio de 4,6 ppm, mais desblindado do que os prótons correspondentes do composto de partida **49** (3,87 ppm) e do composto dioxolano correspondente **47** (4,30 ppm).

O produto foi também analisado por espectroscopia de IV, onde se verificou a ausência de uma banda larga correspondente à vibração da ligação O-H, confirmando a formação da estrutura cíclica. O espectro apresenta uma banda a  $3334\text{ cm}^{-1}$ , relativa à vibração da ligação N-H, assim como, duas bandas a  $2931$  e  $2857\text{ cm}^{-1}$  que correspondem a vibrações das ligações C-H aromáticas e alifáticas, respetivamente. Por fim, uma banda intensa a  $1702\text{ cm}^{-1}$  típica da ligação C=O do grupo carbamato.

Para além da estrutura representada em cima, outro produto secundário foi também isolado em coluna de cromatografia (figura 2.4). A formação deste composto é promovida pela utilização de uma quantidade em excesso do reagente TBDPSCI, assim como, pela libertação de N-Z-Etanolamina no meio reacional.



**Figura 2.4** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do produto secundário **68** (400 Hz,  $\text{CDCl}_3$ )

Uma vez que não foi possível obter o composto pretendido **51**, devido à formação do intermediário cíclico, foi desenvolvida uma via sintética alternativa descrita mais abaixo. Esta via consiste na reação entre um derivado glicerol protegido num dos grupos hidroxilo primários, previamente preparado, com um reagente de fósforo preparado a partir de  $\text{POCl}_3$ .

#### 2.2.1.5. Síntese de 4-((tert-butil difenilsilano) metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano **52** e de 4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano **53**

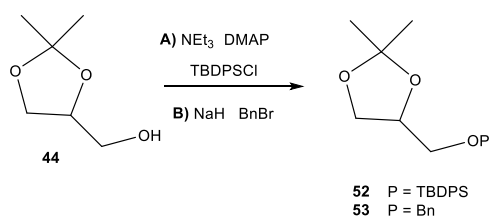
Devido à dificuldade na proteção do grupo hidroxilo primário e à formação de um intermediário anel de 5 membros com o fósforo, foi desenvolvida uma via alternativa B em que a proteção deste álcool primário é o primeiro passo reacional. Para esta reação foram



utilizados dois grupos de proteção, TBDPS e Bn e a descrição dos compostos obtidos é feita mais abaixo.

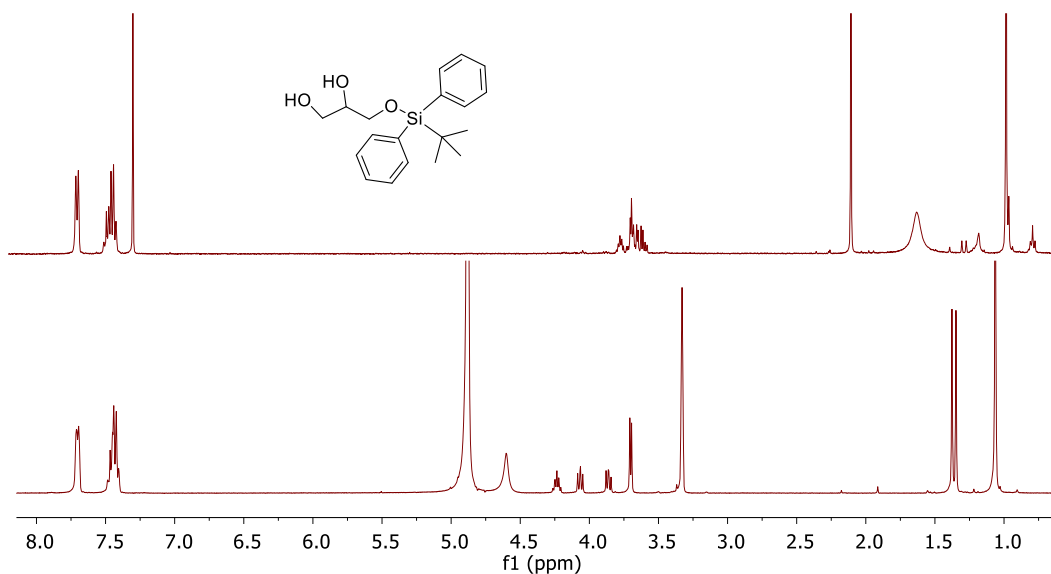
Para a via B, a primeira reação para a preparação do glicerofosfato ou glicerofosfoamidato consiste na proteção do grupo hidroxilo primário de **44**, utilizando para tal o TBDPSCI ou o brometo de benzilo. No primeiro caso (proteção com o TBDPSCI), o material de partida utilizado foi o produto da reação de proteção dos hidroxilos do glicerol com formação do cetal, sem qualquer passo prévio de purificação. A reação de proteção ocorreu em meio básico, na presença de trietilamina e DMAP, em condições catalíticas e o produto **52** foi obtido com rendimentos entre os 30-40 %.

No caso da proteção através de uma reação de benzilação, foi utilizado o composto **44** de origem comercial na reação com o brometo de benzilo na presença de NaH. Após purificação em coluna de cromatografia com sílica *flash* o produto **53** foi obtido com um rendimento de 70%. Esta diferença nos rendimentos das duas reações de proteção está sobretudo relacionada com a pureza do material de partida, uma vez que, no caso da utilização do grupo protetor TBDPS, o material de partida **44** envolvido na reação é um crude, ao invés da benzilação em que este é comercial.



**Esquema 2.7** - Esquema reacional da síntese de *tert*-butil((2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)methoxy)difenilsilano **52** e de 4-((benziloxy)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano **53**

Novamente, a identidade dos produtos obtidos foi confirmada por  $^1\text{H}$  RMN. No caso da reação de proteção com o TBDPSCI, a análise por  $^1\text{H}$  RMN foi feita utilizando dois solventes deuterados diferentes com o objetivo de estudar a sensibilidade do grupo cetal na estrutura (figura 2.5). Primeiramente, o espectro em clorofórmio deuterado confirmou a sensibilidade do grupo cetal aos traços de acidez do solvente, através da ausência dos sinais singuletos correspondentes aos grupos metilo do grupo cetal. Para além de uma maior resolução dos sinais, o espectro do composto realizado em metanol, apresenta já os dois sinais singuletos com integral correspondente a 3 prótons com desvios a 1,35 e 1,39 ppm dos grupos metilo.



**Figura 2.5** - Comparação entre os espectros de  $^1\text{H}$  RMN em  $\text{CDCl}_3$  (cima) e  $\text{MeOD-d}_4$  (baixo) composto **52**

Quanto ao produto da reação de benzilação, este foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN utilizando como solvente MeOD. O espectro obtido confirmou a identidade do composto **53** através dos sinais singletos a 1,35 e 1,39 ppm correspondentes aos grupos metilos. Relativamente aos prótons do esqueleto do glicerol, o CH do anel do dioxolano é o sinal mais desblindado a 4,29 ppm, os prótons do  $\text{CH}_2$  do anel com desvios de 4,07 e 3,74 ppm e os prótons do grupo metileno externo ao anel de dioxolano a 3,54 ppm. Na zona mais desblindada do espectro, os sinais do anel aromático divididos em dois sinais com integrais de 4 e 1. Para o primeiro, os prótons nas posições *orto* e *meta* e para o segundo sinal, o próton em posição *para*.

**Tabela 3** - Caracterização dos compostos **52** e **53**;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{MeOD-d}_4$ )

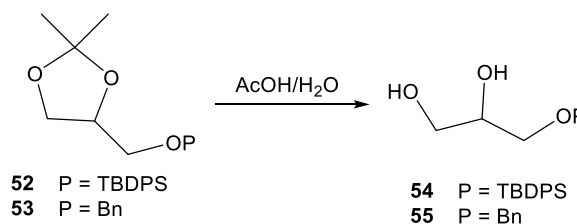
Composto	$^1\text{H}$ RMN
<p><b>52</b></p>	<p>7,76 – 7,66 (m, 4H), 7,44 (dq, 6H), 4,23 (p, 1H, H4), 4,10 – 4,04 (m, 1H, H5), 3,89 – 3,83 (m, 1H, H8), 3,70 (d, 2H, H5'/H8'), 1,38 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,06 (s, 9H, H18/H19/H20).</p>
<p><b>53</b></p>	<p>7,36 (d, 4H, H12/H13/H15/H16), 7,33 – 7,27 (m, 1H, H14), 4,58 (s, 2H, H10), 4,29 (q, 1H, H4), 4,07 (dd, 1H, H5), 3,74 (dd, 1H, H5'), 3,54 (h, 2H, H8), 1,39 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).</p>

### 2.2.1.6. Síntese de 3-((tert-butildifenil isilil)oxi)propano1,2-diol **54** e de 3-(benziloxi)propano-1,2-diol **55**

Após proteção do grupo hidroxilo primário, a reação seguinte na via B, consistiu na abertura do grupo cetal em condições ácidas suaves. Assim como na via A, foi utilizada uma solução de ácido acético em água e várias concentrações foram testadas. Os melhores rendimentos foram obtidos com uma solução de AcOH/H<sub>2</sub>O (1:5) e os produtos **54** e **55** foram obtidos com rendimentos entre 75-90% (tabela 4). Como se confirmou anteriormente a sensibilidade do grupo cetal aos traços de acidez do clorofórmio, também foi feito um ensaio, substituindo a solução aquosa de ácido acético por uma solução de clorofórmio comercial. Apesar de se ter verificado, por <sup>1</sup>H RMN, a abertura quase completa do cetal num rácio de 5:1, o excessivo tempo da reação com clorofórmio (7 dias), torna esta via menos preferível do que quando são utilizadas condições ácidas suaves em que a abertura do cetal é completa e o tempo de reação é mais curto (2h).

**Tabela 4** - Comparação dos rendimentos obtidos para a reação de abertura do cetal utilizando soluções de AcOH/H<sub>2</sub>O com diferentes concentrações

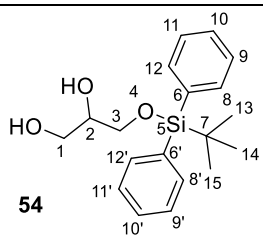
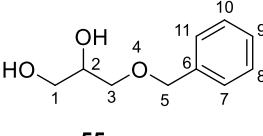
Composto	Solução AcOH/H <sub>2</sub> O (v/v)		
	1:1	1:2	1:5
<b>54</b>	η=70%	η=78%	η=90%
<b>55</b>	—	η=80%	η=91%



**Esquema 2.8** - Esquema reacional da síntese de 3-((tert-butildifenil isilil)oxi)propano1,2-diol **54** e de 3-(benziloxi)propano-1,2-diol **55**

Mais uma vez, a identidade dos compostos foi confirmada pela análise de <sup>1</sup>H RMN (tabela 5), utilizando metanol deuterado como solvente, onde se verifica, para ambos os casos, o desaparecimento dos singletos relativos aos grupos metilo do cetal. Para ambos os produtos **54** e **55**, os sinais correspondentes ao esqueleto do glicerol apresentam pequenas diferenças no desvio químico para campo mais alto, comparativamente aos compostos dioxolanos correspondentes **52** e **53**. Para ambos os compostos **54** e **55**, os espetros de IV apresentam uma banda larga a 3443 e 3393 cm<sup>-1</sup>, respetivamente que corresponde à vibração da ligação O-H.

**Tabela 5** - Caracterização dos compostos **54** e **55**;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

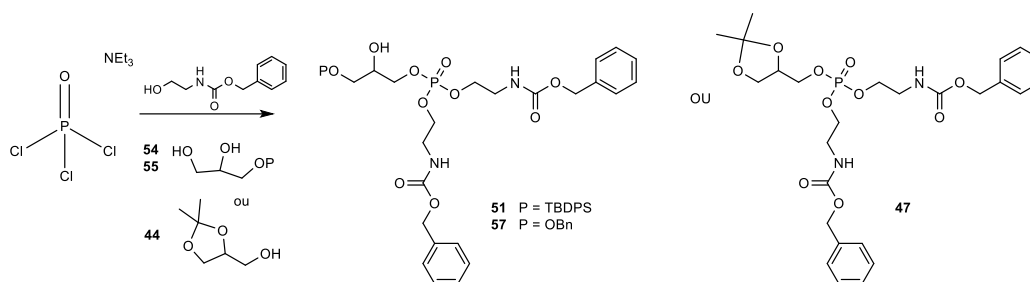
Composto	$^1\text{H}$ RMN
 <p><b>54</b></p>	<p>7,77 – 7,68 (m, 4H), 7,42 (dt, 6H), 3,75 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 3,72 – 3,66 (m, 2H), 3,63 – 3,52 (m, 2H), 1,06 (s, 9H).</p>
 <p><b>55</b></p>	<p>7,38-7,36 (m, 4H, H7/H8/H10/H11), 7,28 (t, 1H, H9), 4,57 (s, 2H, H5), 3,81 (p, 1H, H2), 3,58-3,53 (m, 4H, H1/H3).</p>

No caso do composto benzilado **55**, os sinais do esqueleto do glicerol, com um integral combinado correspondente a 5 prótons, surgem com desvios químicos de 3,55 ppm (4H) e 3,81 ppm (1H). Quanto ao grupo de proteção benzilo, um sinal de singuleto a 4,57 ppm correspondente ao grupo metileno ligado ao anel aromático e dois sinais numa zona mais desblindada com integral combinado de 5 prótons que pertencem ao anel fenilo monosubstituído indicam a presença do grupo Bn. Um tripleto a 7,28 ppm relativo ao próton do anel em posição *para* e um multiplete a 7,38-7,36 ppm que corresponde aos restantes 4 prótons em posições *orto* e *meta*.

Para o composto **54** protegido com o grupo *tert*-butil difenilsilano (TBDPS), um singuleto a 1,06 ppm com integral de 9 prótons correspondentes aos grupos metilo do grupo *tert*-butilo e dois sinais numa zona de campo mais baixo a 7,77-7,68 e a 7,42 ppm relativos aos prótons dos anéis aromáticos nas posições *meta*, e em *orto* e *para*, respetivamente integrando para 4 e 6 são indicativos da presença deste grupo de proteção.

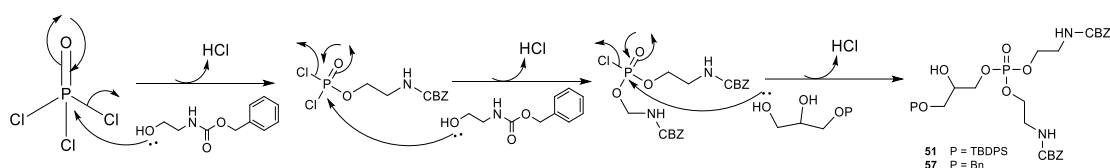
#### 2.2.1.7. Preparação dos glicerofosfatos **47**, **51** e **57**

O último passo reacional apresentado no esquema 2.2 na via B para a síntese de glicerofosfato está representado no esquema 2.9 para o composto de glicerol previamente protegido num dos grupos hidroxilo primários. Este método *one-pot* partindo do cloreto de fosfato foi descrito por Saady *et al.*<sup>68</sup> para a preparação de um intermediário fosforamida.



**Esquema 2.9** - Esquema reacional para a preparação dos glicerofosfatos **47**, **51** e **57**

Quanto ao mecanismo reacional envolvido, um conjunto de três reações  $S_N2$  com libertação de HCl em cada um dos passos (esquema 2.10). O método consiste na adição sucessiva de 1 equivalente de substrato até obtenção do composto fosfato trissubstituído. Primeiramente, é adicionado 1 equivalente de etanolamina, formando o intermediário dicloreto de fosfato monosubstituído. Este passo é repetido novamente para a obtenção de outro intermediário, cloreto de fosfato disubstituído. Por último procedeu-se à adição de 1 equivalente do derivado glicerol **54** ou **55**.

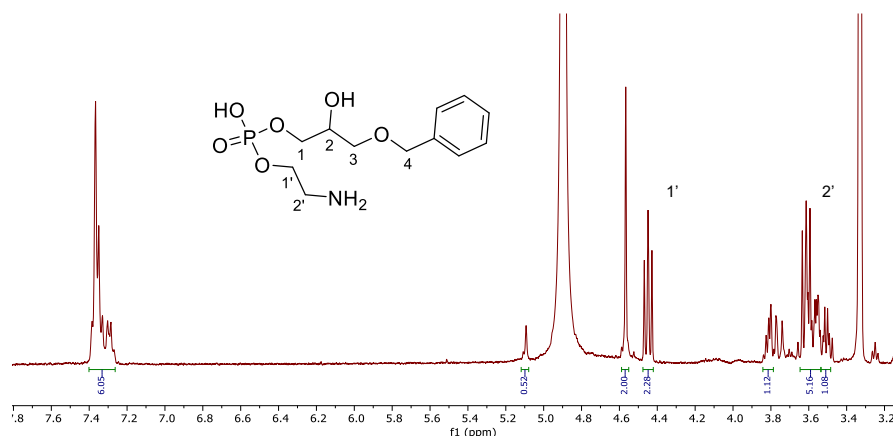


**Esquema 2.10** - Mecanismo para a síntese dos compostos **51** e **57**

Primeiramente, para o substrato de glicerol com o grupo de proteção benzilo **55**, foram utilizadas condições de temperatura de  $-78^\circ\text{C}$ , de modo a controlar a velocidade da reação de substituição, na presença de 3 equivalentes de trietilamina. Através deste conjunto de condições reacionais, verificou-se a formação de um conjunto de produtos isolados e purificados em coluna de cromatografia em sílica *flash* e caracterizados por  $^1\text{H}$  RMN e IV. No entanto, em nenhuma das frações se verificou a presença do composto desejado **57**.

Como se pode observar no espectro de  $^1\text{H}$  RMN abaixo, uma das estruturas propostas, **69**, consiste num fragmento de glicerol substituído nos grupos hidroxilo primários com um grupo benzilo, e um substituinte de fósforo com uma cadeia de etanolamina.

As condições reacionais (3 eq de  $\text{NEt}_3$ ) utilizadas não foram suficientes para neutralizar a quantidade de HCl gerada na reação, e deste modo, o pH da mistura reacional foi suficientemente ácido para remover o grupo de proteção CBZ.



**Figura 2.6** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN da estrutura proposta para o intermediário **69** (400 MHz;  $\text{MeOD-d}_4$ )

A identificação da estrutura **69** foi feita através de  $^1\text{H}$  RMN e de IV, onde se confirma a monosubstituição através da proporção dos integrais dos prótons  $\text{CH}_2\text{-4}$  do grupo benzilo e os sinais  $\text{CH}_2\text{-1'}$  e  $\text{CH}_2\text{-2'}$  da etanolamina. Ao invés da reação de proteção descrita para a via sintética A em que ocorre a formação de um intermediário anel de 5 membros, neste caso não se verifica o mesmo, uma vez que o sinal correspondente ao próton  $\text{CH-5}$  tem um desvio químico de 3,8 ppm típico para derivados glicerol alifáticos. No caso da estrutura do intermediário cíclico, o próton correspondente tem um desvio químico de 4,6 ppm.

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN também é possível observar vestígios de N-Z-Etanolamina através do sinal de singuleto a 5,1 ppm que corresponde ao  $\text{CH}_2$  do grupo de proteção CBZ. A presença deste composto é confirmada no espectro de IV, onde se observa uma banda a  $1733\text{ cm}^{-1}$  relativa à vibração da ligação  $\text{C=O}$  típica de grupos funcionais carbamato.

É necessário otimizar as condições reacionais, como temperatura e equivalentes de modo a reduzir a formação de produtos secundários, e consequentemente obtenção do composto desejado **57**.

Uma vez que surgiram complicações na reação relativas ao pH ácido, foram realizados ensaios para a preparação deste intermediário glicerofosfato **47**, utilizando como derivado glicerol, o composto comercial **44** na presença de 10 equivalentes de trietilamina. Deste modo, evita-se desperdício do produto isolado **55**. Para além disso, a utilização do glicerol cetral **44** como reagente, reduz a formação de produtos secundários, uma vez que não existe competição nucleófila entre os grupos hidroxilo. O composto glicerofosfato foi isolado e caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN e IV.

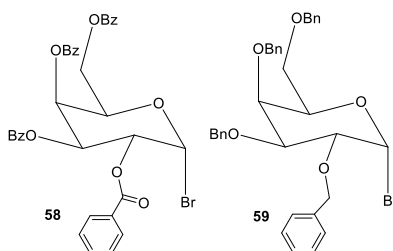
A identificação da presença do cetal no composto foi feita através dos sinais singletos correspondentes aos grupos metilos a 1,33 e 1,39 ppm e da ausência de uma banda larga no espectro de IV correspondente à vibração da ligação O-H. Quanto aos prótons do esqueleto, estes estão divididos em dois sinais, um multipeto a 4,29-4,25 ppm relativo ao grupo metino H5 e um multipeto a 3,96 – 3,78 ppm que corresponde aos restantes prótons. A presença do esqueleto de etanolamina foi confirmada pelos sinais dos três CH<sub>2</sub>: um singuleto a 5,1 ppm (CH<sub>2</sub>-19), um multipeto a 4,18-3,99 ppm (CH<sub>2</sub>-13) sobreposto com um sinal de acetato de etilo, eluente utilizado na coluna de cromatografia, e um dupeto de tripletos a 3,38 ppm (CH<sub>2</sub>-14). Na zona mais desblindada do espectro, é possível observar um multipeto com um integral de 10 prótons aromáticos que correspondem aos dois anéis monosubstituídos do grupo CBZ.

Uma vez isolada esta estrutura, o passo seguinte consistiu na abertura do grupo cetal. Este passo reacional já foi descrito mais acima, na presença de uma solução aquosa ácida. A abertura do cetal resulta na formação do composto diol correspondente, isolado e caracterizado.

### 2.3. Reações de derivatização da galactose

Como foi mencionado mais acima na introdução, o papel dos grupos funcionais protetores é fundamental para a estereoseletividade das reações de acoplamento. No caso do fosfoglicoglicerol a sintetizar, cuja configuração previamente determinada como  $\alpha$ , é necessária uma proteção dos grupos hidroxilo da galactose com grupos não participantes tais como benzilo, para a obtenção preferencial desta configuração no produto da reação de acoplamento.

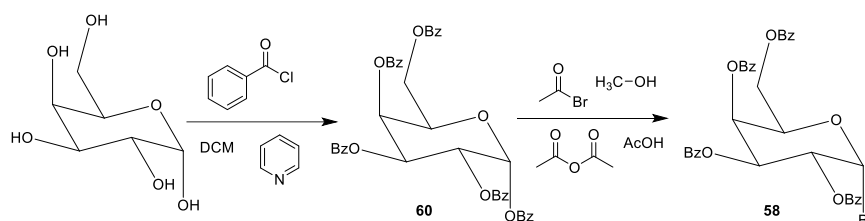
Na secção abaixo é descrita a preparação de duas estruturas derivadas da galactose protegidas com grupos vizinhos não participantes (Bn) **59** e grupos vizinhos participantes (Bz) **58** (figura 2.9) com o objetivo de estudar a influência dos grupos protetores na configuração do produto da reação de acoplamento. Ambas as estruturas têm um átomo de Br ligado ao centro anomérico.



**Figura 2.7** - Estruturas de brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzóilo- $\alpha$ -D-galactopiranosil **58** e brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil **59**

### 2.3.1. Preparação de brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil 58

A síntese deste composto consistiu em dois passos reacionais representados no esquema em baixo. Partindo de D-(+)-galactose, uma reação de benzoílação para a proteção de todos os grupos hidroxilo do açúcar seguida de uma halogenação no carbono anomérico. A reação de benzoílação ocorreu a baixa temperatura, seguindo o procedimento descrito por Vogel<sup>69</sup> (esquema 2.12) e o produto foi obtido com um rendimento de 17%. Este foi caracterizado por <sup>1</sup>H RMN, onde se confirmou a identidade do composto, comparando os valores obtidos com os dados descritos na literatura<sup>70</sup>.



**Esquema 2.11** - Via sintética para a preparação de brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil 58

Através do espectro de <sup>1</sup>H RMN, é possível observar a formação de ambos os anómeros  $\alpha$  e  $\beta$  de Gal-*p* (10:1). A formação preferencial da conformação  $\alpha$  é favorecida pelo efeito anomérico, em que a presença de um substituinte eletronegativo prefere a posição axial ao invés do equatorial. Na zona mais desblindada do espectro, um conjunto de sinais com um integral total de 25 prótons correspondentes aos 5 anéis aromáticos dos grupos benzoílo. Para o próton ligado ao centro anomérico, no caso da estrutura  $\alpha$ , um duplete 6,98 ppm com uma constante de 3,5 Hz típica de acoplamento entre prótons de posições equatorial-axial (1-4 Hz). Enquanto que, no caso da conformação  $\beta$ , um duplete a 6,3 ppm com uma constante de 8,4 Hz típica para acoplamento entre prótons axial-axial anomérico (7-9 Hz).

Quanto aos restantes prótons da estrutura, estes estão devidamente identificados na tabela abaixo. Num intervalo entre os 6-6,3 ppm, estão os sinais correspondentes aos H2, H3 e H4, enquanto que os sinais dos restantes prótons do anel, H5 e H6 estão num intervalo entre os 4,5-5 ppm.

O passo reacional seguinte consiste na halogenação na posição anomérica. Primeiramente, utilizando um procedimento de Vogel<sup>69</sup>, com uma solução de HBr/AcOH, o produto não foi obtido. Por esse motivo, optou-se pela utilização de um procedimento diferente em que é produzido HBr *in situ* na presença de anidrido acético, metanol e brometo

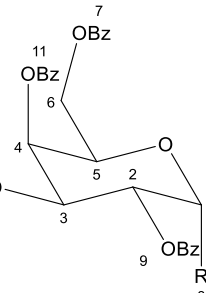


de acetilo, representado no esquema 2.12. O produto foi obtido segundo este método num rendimento de 37% e foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN.

Ao contrário da reação anterior, apenas foi obtida a conformação  $\alpha$ , uma vez que o efeito de estabilização anomérico é maior na presença de um substituinte Br. Para além de ser um bom grupo de saída, o átomo de Br também tem uma grande capacidade de distribuição da carga formal negativa, estabilizando as estruturas de ressonância que se formam através da partilha do par de eletrões livres do átomo de oxigénio.

**Tabela 6** - Comparação dos desvios químicos no espetro de  $^1\text{H}$  RMN entre os sinais dos protões do anel de pirose dos compostos **58** e **60**

$^1\text{H}$ RMN (400 MHz, MeOD-d <sub>4</sub> ) $\delta$ (ppm):								
	R	H-1	H2	H3	H4	H5	H6	H6'
<b>60</b>	Bz	6,98	6,06	6,15	6,22	4,86	4,66	4,45
<b>58</b>	Br	6,99	5,68	6,07	6,13	4,93	4,65	4,48



Como se pode observar no espetro de  $^1\text{H}$  RMN, o integral total dos sinais dos protões aromáticos é de 20 protões, uma vez que um dos sinais está sobreposto com o sinal do solvente  $\text{CDCl}_3$  a 7,26 ppm. Quanto aos restantes protões, estes têm os mesmos desvios que o produto totalmente benzoilado, com exceção do H-2. Este sofreu um efeito de blindagem que corresponde a um desvio de -0,4 ppm. A comparação entre os sinais do anel de pirose para 1,2,3,4,6-penta-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil (**60**) e brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil (**58**) está representada na tabela 6.

### 2.3.2. Preparação de brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil **59**

Para a preparação deste composto, foram descritas duas vias sintéticas representadas no esquema em baixo. A primeira via consistiu em vários passos reacionais, começando por uma metilação do grupo hidroxilo ligado ao centro anomérico, através do tratamento da D-galactose com uma solução metanólica de HCl, para a obtenção da estrutura termicamente mais estável<sup>70</sup> metil  $\alpha$ -galactose. De seguida, um conjunto de três reações, na seguinte ordem: benzilação dos grupos hidroxilo nas posições 2,3,4 e 6; hidrólise do éter; bromação na posição 1<sup>71</sup>.

**Via A**

Reaction scheme for the synthesis of compound 59 via compound 61:

Starting material (a substituted sugar derivative) reacts with  $\text{MeOH/HCl}$  under reflux to form intermediate **61**.

Intermediate **61** is then converted to compound **59** through a two-step process:

- Reaction with  $\text{BnBr}$  and  $\text{NaH}$  to form intermediate **62**.
- Reaction with  $\text{HBr/AcOH}$  to yield compound **59**.

**Via B**

Reaction scheme for the synthesis of compound 59 via compound 62:

Starting material (a substituted sugar derivative) reacts with  $\text{BnBr}$  and  $\text{NaH}$  to form intermediate **62**.

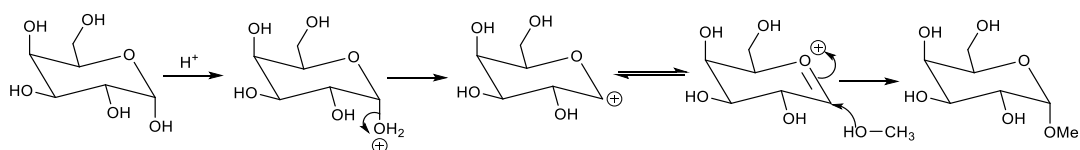
Intermediate **62** is then converted to compound **59** through a two-step process:

- Reaction with  $\text{HBr/AcOH}$  to form intermediate **61**.
- Reaction with  $\text{a, b, c}$  to yield compound **59**.

A principal diferença entre estas duas vias sintéticas consiste na reação de hidrólise. Na primeira via, a proteção da galactose é feita através da utilização de dois grupos diferentes, sendo o grupo hidroxilo ligado ao centro anomérico é protegido através de uma metilação. Enquanto que, na segunda via, todos os grupos hidroxilos são protegidos numa única reação de benzilação.

#### 2.3.2.1. Síntese de metil $\alpha$ -D-galactopiranosil **61**

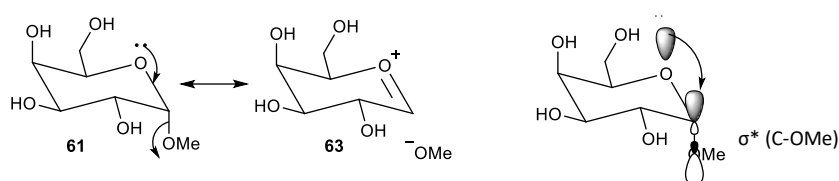
Compostos do tipo lactol, como as formas de piranoses da galactose são hemiacetais e como tal, são capazes de reagir com álcoois para a formação de acetais. O mecanismo está representado no esquema abaixo.



36

A protonação ocorre na presença de ácido e a libertação de água origina um intermediário carbocatião em equilíbrio com o ião oxónio. O catião glicosídeo, sofre um ataque nucleófilo do álcool para a formação do produto acetal. Esta é uma reação de equilíbrio e como tal, o tratamento do produto da reação com uma solução ácida reverte o sentido do equilíbrio dando origem ao açúcar de partida. Sendo a reação de controlo termodinâmico, o anómero que se forma maioritariamente corresponde ao produto termodinamicamente mais estável ( $\alpha$ ). Tendo em conta efeitos estéreos, seria lógico afirmar que o produto mais estável desta reação é o anómero  $\beta$ , com o substituinte anomérico na posição equatorial, ao invés do anómero  $\alpha$  com o substituinte na posição axial, mais impedida.

A obtenção do produto termodinamicamente mais estável  $\alpha$  ao invés do anómero  $\beta$ , está relacionada com o efeito eletrónico anomérico, em que os substituintes eletronegativos num anel de piranose preferem ocupar a posição axial do que equatorial<sup>73</sup>. Quando existe um substituinte eletronegativo em posição axial, o par de eletrões livres do átomo de oxigénio do anel está anti-periplanar à ligação C-OMe. Esse par de eletrões pode participar numa interação e formar as duas estruturas de 61 e 63 representadas na figura abaixo.

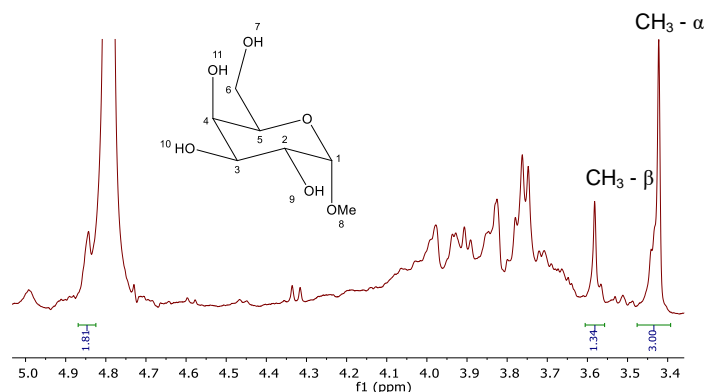


**Figura 2.8** - Estruturas **61** e **63** e representação das orbitais

Estas estruturas resultantes correspondem a uma interação entre o par de eletrões do átomo de oxigénio e a orbital anti-ligante  $\sigma^*$  da ligação C-OMe, que resulta numa deslocalização eletrónica e consequentemente a estabilização da energia. O facto destas orbitais estarem em posição anti-periplanar, otimiza a sua sobreposição. Duma forma geral, este efeito tem implicações na química dos carboidratos, uma vez que a formação de  $\alpha$ -glicosidos tende a ser mais favorável em comparação com os anómeros  $\beta$ .

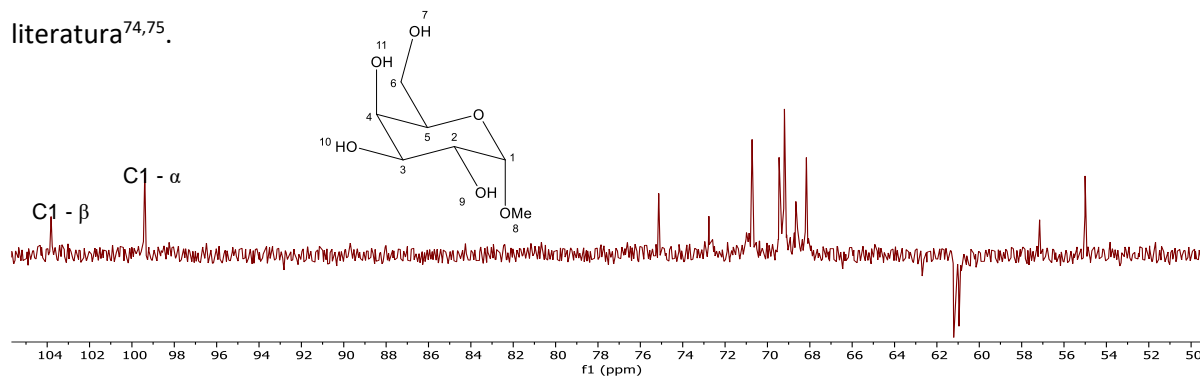
O efeito anomérico pode ser explicado como sendo um efeito destabilizador, que é uma consequência da repulsão dipolar de um substituinte eletronegativo equatorial em C1 e o dipolo resultante do par de eletrões livres do átomo de oxigénio do anel. Este efeito foi inicialmente considerado um efeito repulsivo eletrostático que ocorre apenas na conformação  $\beta$ . Para esta reação foram utilizadas condições típicas como uma solução de MeOH/HCl. Foi obtida uma mistura dos anómeros  $\alpha/\beta$  numa proporção de 2.2:1,

representada pelo integral dos sinais no espectro de  $^1\text{H}$  RMN, correspondentes aos prótons do grupo metilo (figura 2.11).



**Figura 2.9** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **61** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

Uma vez que o produto da reação não foi purificado e isolado, a atribuição dos sinais correspondentes aos prótons do açúcar não é clara. No entanto, os dois sinais singletos a 3,48 ppm e a 3,61 ppm no espectro de  $^1\text{H}$  RMN e a 55 ppm, 57 ppm no espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN, correspondentes ao grupo  $\text{OCH}_3$  confirmam a identidade dos dois anômeros  $\alpha$  e  $\beta$ . Para além destes sinais, também é possível identificar os sinais correspondentes ao carbono anomérico no espectro de  $^{13}\text{C}$  a 100 e a 104 ppm que correspondem aos anômeros  $\alpha$  e  $\beta$ , respetivamente. Estes valores obtidos foram comparados e confirmados através dos resultados obtidos na literatura<sup>74,75</sup>.



**Figura 2.10** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **61** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

#### 2.3.2.2. Síntese de metil 2,3,4,6-tetra-*O*-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil

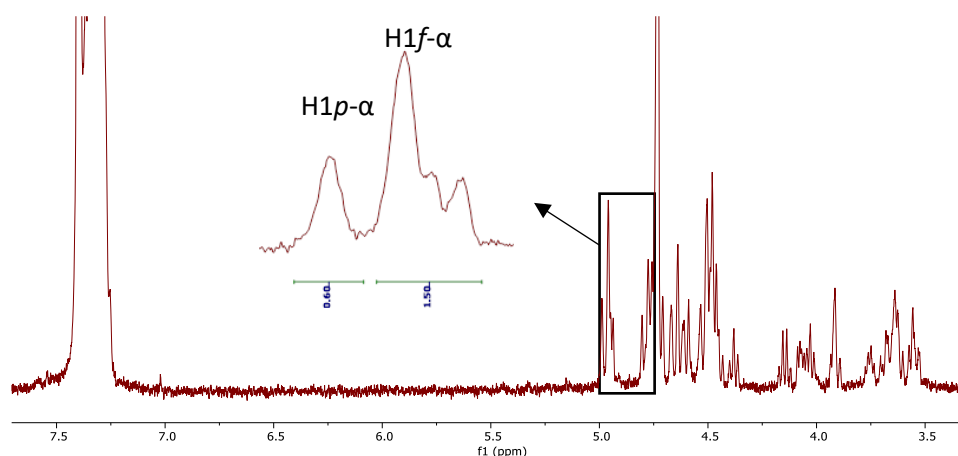
Após a obtenção dos compostos metil  $\alpha$ - e  $\beta$ -D-galactopiranosil, a fase seguinte desta via sintética consiste num conjunto de três passos reacionais, descritos por Leslie *et al*<sup>69</sup>, até à obtenção do produto final tetrabenzil bromogalactose. Começando com uma proteção seletiva dos grupos hidroxilo, seguida de uma hidrólise na posição anomérica e por fim, uma reação de bromação.

Os éteres benzílicos são um dos grupos protetores mais comuns na química dos açúcares. A sua preparação ocorre pelo tratamento de um álcool com halogenetos de benzilo, sendo o brometo de benzilo o mais comum, na presença de uma base como hidreto de sódio. O mecanismo desta reação é uma substituição  $S_N2$  e resulta numa benzilação dos grupos hidroxilo do açúcar. Esta também pode ser catalisada por uma fonte de iodeto (TBAI), uma vez que o iodeto é ambos, bom grupo de saída e bom nucleófilo. Primeiramente, o iodo substitui o bromo, antes de ser o próprio a ser substituído, numa reação conhecida como catálise nucleófila.

Para a reação de proteção, foi utilizado brometo de benzilo na presença de uma base NaH e TBAI em quantidade catalítica. Diversas condições reacionais foram testadas, variando a temperatura, solvente, quantidades de reagentes, no entanto, em nenhuma destas foi obtido o produto desejado. Devido à quantidade de reações necessárias para a preparação deste composto, e consequentemente à perda de rendimentos associada, foi desenvolvida uma segunda via sintética, que consiste em apenas dois passos reacionais. Esta via está descrita na secção em baixo.

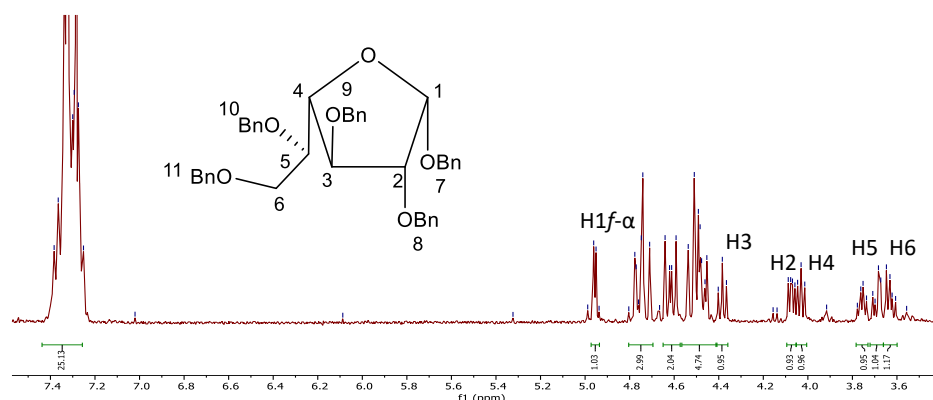
#### 2.3.2.3. Síntese de 1,2,3,4,6-penta-*O*-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil **62**

Uma vez que a reação de benzilação de metil  $\alpha$ -D-galactopiranosil não funcionou, foram realizados ensaios utilizando como substrato a D-(+)-galactose. Diversas condições reacionais foram testadas, verificando-se a obtenção de uma mistura das formas de furanose e piranose, utilizando condições de temperatura ambiente, dez equivalentes de hidreto de sódio e de brometo de benzilo, DMF como solvente e 5-7 dias de agitação.



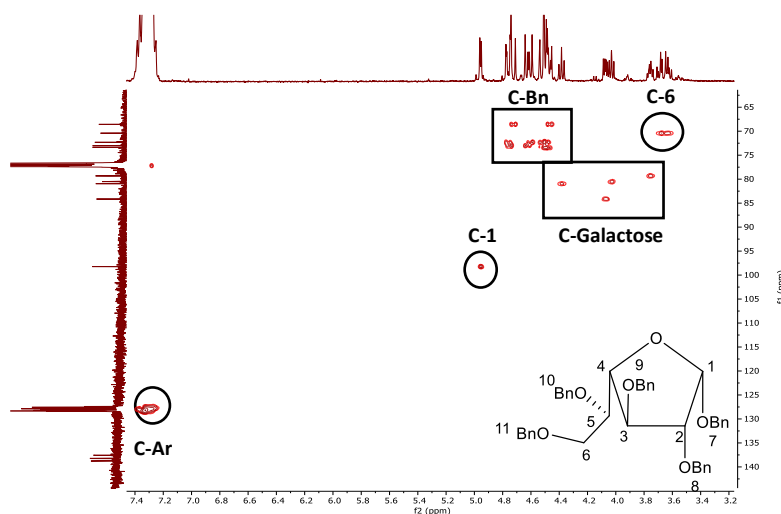
**Figura 2.11** - Espectro de  $^1H$  RMN do produto da reação de benzilação da D-galactose (400 MHz;  $CDCl_3$ ),  $H1f$  (furanose) e  $H1p$  (piranose)

Apesar de se obter uma mistura das formas de pirose e furanose, apenas o anômero  $\alpha$  está presente<sup>76</sup> (figura 2.11). Como se pode observar no espectro de  $^1\text{H}$  RMN, os dois sinais correspondentes a prótons anoméricos têm uma proporção de 1:2.5. No entanto, devido à semelhança de desvios químicos, o produto maioritário foi isolado de modo a determinar a qual das formas de piranose ou furanose corresponde. Este foi caracterizado por  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC, HMBC e NOESY RMN, onde se verificou a formação preferencial da forma da furanose, através da comparação dos desvios químicos obtidos (figura 2.12) com os valores da literatura<sup>76</sup>.



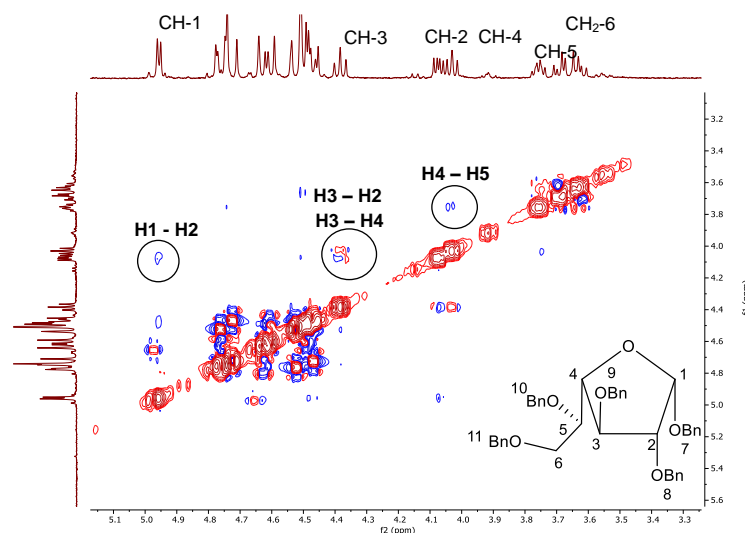
**Figura 2.12** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose **70** (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

A sua identidade foi confirmada por  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN, onde se verificou a presença de apenas a conformação  $\alpha$ , através do sinal de duplete do próton anomérico a 4,96 ppm com uma constante de 4,2 Hz, típica de acoplamento axial-equatorial, ligeiramente superior ao intervalo de valores típicos para  $\alpha$ -Galp (3,2-3,8 Hz). Através de  $^{13}\text{C}$  RMN e HSQC, foi possível distinguir os sinais dos prótons do esqueleto da galactose dos sinais dos  $\text{CH}_2$  dos grupos benzilo (figura 2.13).



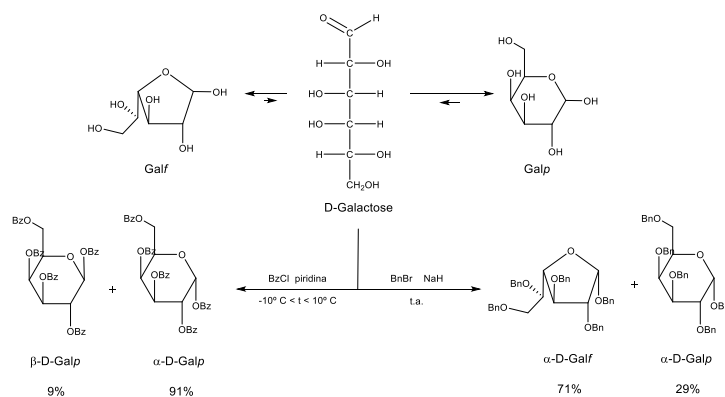
**Figura 2.13** - Espectro de HSQC de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose **70** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

A atribuição dos sinais dos prótons da unidade de galactose, foi conseguida através da análise do espectro de  $^1\text{H}$  RMN e NOESY. Na figura abaixo está representado o espectro de NOESY onde é possível observar a correlação entre os prótons do anel de furanose. A cada um destes prótons, foi atribuído um sinal do carbono correspondente através da análise do espectro de HSQC (figura 2.13).



**Figura 2.14** - Espectro de NOESY 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose **70** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

Na figura 2.15 estão representados os equilíbrios das formas da D-galactose assim como os produtos obtidos para as reações de benzoilação e benzilação da D-Galactose. Tal como a glucose, também a galactose existe maioritariamente na forma de piranose em solução<sup>77</sup>. Para ambas as reações, ocorre formação preferencial do anômero  $\alpha$ . No entanto, para a reação de benzoilação, o produto foi obtido na forma de piranose enquanto que na reação de benzilação, verifica-se a formação dos dois isômeros sendo o produto maioritário o que resulta da benzilação da furanose.

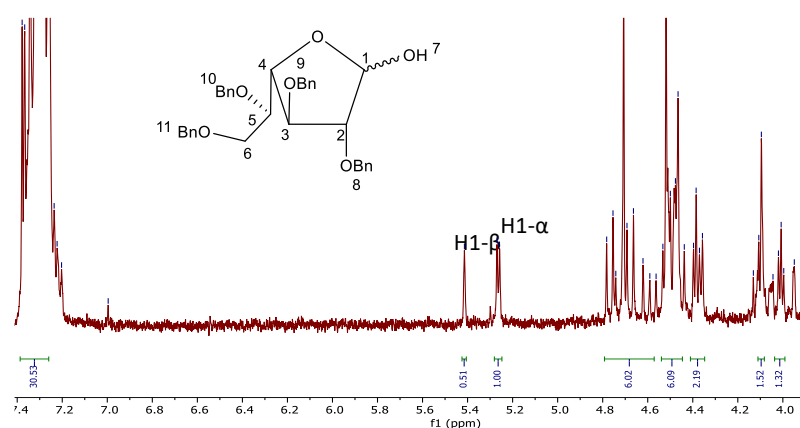


**Figura 2.15** - Formas e configurações da D-Galactose obtidas para as reações de benzoilação e benzilação

Bordoni et al.<sup>78</sup> obtiveram resultados semelhantes na preparação de substratos de galactofuranose através de catálise ácida. Num artigo que envolve a preparação de diversas estruturas de açúcares benzilados utilizando KOH em excesso em DMSO, Decoster et al.<sup>79</sup> demonstram por espectroscopia de  $^1\text{H}$  RMN que o açúcar é obtido com bom rendimento na forma de  $\alpha$ -furanose.

Após obtenção do produto benzilado, o passo seguinte consiste numa halogenação na posição anomérica, pelo tratamento com uma solução ácida do halogéneo correspondente. No entanto, existem poucos exemplos na literatura de procedimentos descritos para esta transformação, uma vez que, a eterificação de açúcares é uma prática menos comum em relação á esterificação. Todavia, Heyman *et al.*<sup>80</sup> descreveram um procedimento, utilizando uma solução de HBr/AcOH (32-35%) para a reação de bromação na posição anomérica de uma estrutura de glucose pentabenzilada. Este procedimento foi utilizado neste passo reacional.

Apesar de se ter isolado o produto maioritário  $\alpha$ -Gal $\beta$  Bn, para a reação de halogenação na posição anomérica foi utilizado como material de partida o produto que contém a mistura das formas  $\alpha$ -Gal $\beta$  e  $\alpha$ -Gal $\alpha$  penta benziladas (figura 2.12). O produto foi purificado por coluna de cromatografia, onde foram isoladas 2 frações, posteriormente caracterizadas por  $^1\text{H}$  RMN, verificando-se a formação dos compostos hidroxilos correspondentes para ambas as formas de furanose e piranose (2.8:1). Apesar do material de partida ter configuração  $\alpha$ , nesta reação, foram obtidos ambos os anómeros  $\alpha/\beta$  para cada uma das formas.

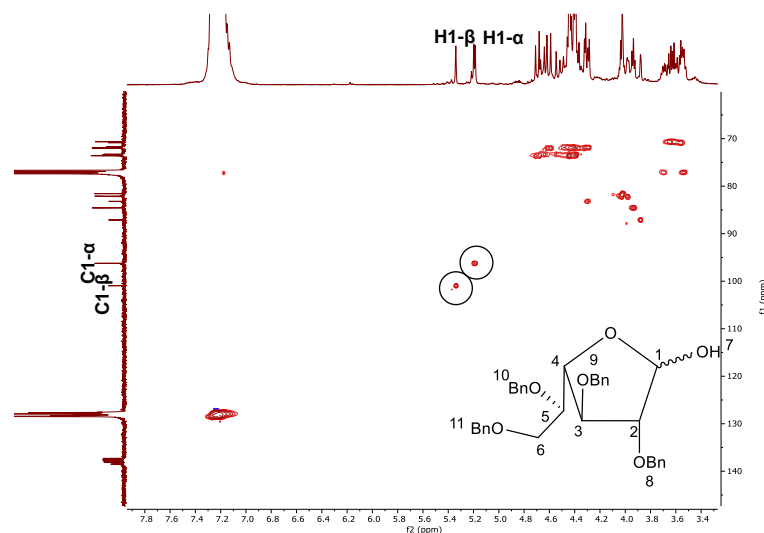


**Figura 2.16** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose **71** (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose **71** ( $\alpha/\beta$ ; 2:1) está representado na figura 2.16. A identificação dos anómeros foi feita através dos sinais correspondentes aos protões anoméricos a 5,27 ppm (H1- $\alpha$ ) e 5,41 ppm (H1- $\beta$ )<sup>76</sup>. Apesar de



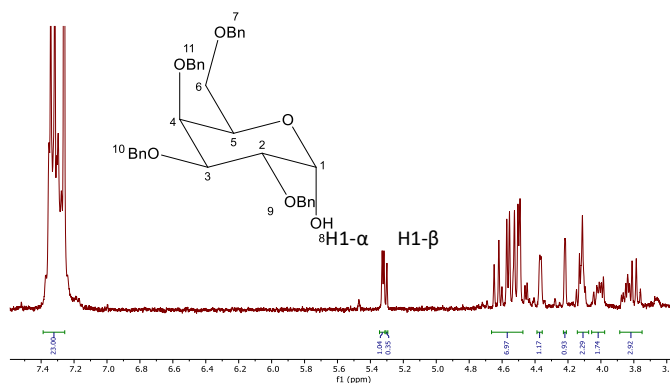
estar mais desblindado comparativamente à respetiva estrutura benzilada, este aumento de desvio químico do protão anomérico não é suficiente para corresponder ao produto brometo descrito na literatura<sup>81</sup> (6,51 ppm). A identificação do anómero  $\alpha$  foi feita através da constante de acoplamento do protão anomérico H1, 4,3 Hz, indicando acoplamento axial-equatorial (H1-H2).



**Figura 2.17** - Espetro de HSQC de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose **71** (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

Na figura 2.17 está representado o espetro de HSQC de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose **71**. Neste espetro estão atribuídos os sinais correspondentes aos carbonos anoméricos para as configurações  $\alpha$  e  $\beta$ . Estes aparecem a 96,2 ppm e 100,9 ppm, respetivamente e estão inseridos num intervalo típico para carbonos anoméricos (90-100 ppm)<sup>76</sup>.

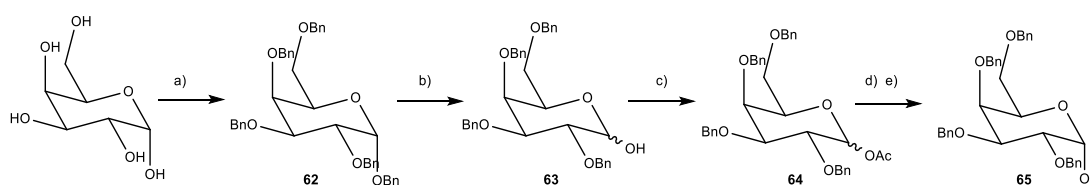
A forma de piranose foi também caracterizada por  $^1\text{H}$  RMN (figura 2.18), onde se verifica também a formação das configurações  $\alpha/\beta$  (3:1). Os sinais correspondentes aos protões anoméricos apresentam desvios químicos de 5,33 ppm (H1- $\alpha$ ) e 5,30 ppm (H1- $\beta$ ). Novamente a conformação preferencial é  $\alpha$ <sup>76</sup>.



**Figura 2.18** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN de 2,3,4,6-penta-O-benzil-D-galactopiranosose **63** (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

Uma vez que não foi possível a obtenção da estrutura halogenada correspondente, através do procedimento descrito na patente mencionada anteriormente, foi desenvolvida uma via alternativa descrita no esquema abaixo. Segundo esta via, a reação de halogenação ocorre para o substrato previamente esterificado seletivamente na posição anomérica através de uma reação de acetilação. Esta metodologia foi descrita por Thomann *et al.*<sup>76</sup> para a preparação de um derivado galactopiranosil etanolamina.

A conversão do grupo hidroxilo na posição anomérica num grupo acetato é particularmente útil, uma vez que, sendo um bom grupo de saída, facilita a introdução de substituintes anoméricos através de reações de substituição nucleofílica. Esta é uma prática comum na química dos açúcares para a preparação de di- e oligossacáridos.

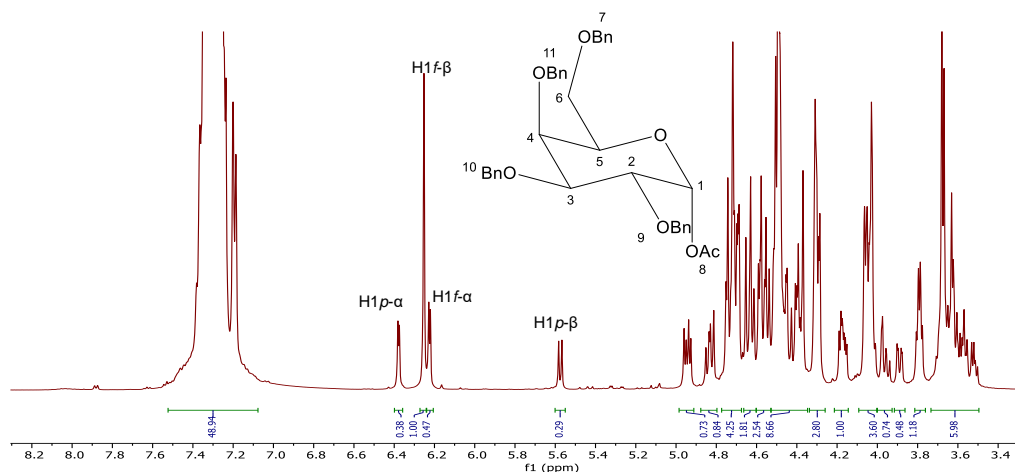


**Esquema 2.14** - Vias sintética para a preparação do fosfoglicoglicerol **65** (a) NaH, BnBr, DMF; (b) AcOH, 1,2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, reflux; (c) Ac<sub>2</sub>O, piridina, DMAP; (d) HBr/AcOH, DCM, t.a.; (e) Brometo de tetrabutilamonio, molecular sieves, álcool nucleófilo 49, 51 ou 57, DIEA

Os dois primeiros passos reacionais para a preparação do intermediário **63** já foram descritos em cima. No entanto, estas reações foram repetidas *in situ*, evitando passos de purificação e perdas de rendimento. Deste modo, o produto da reação de acetilação foi caracterizado por <sup>1</sup>H RMN (figura 2.19), onde se verifica a formação de uma mistura de compostos, incluindo ambas as formas de furanose e piranose do composto **64** (Gal<sub>f</sub>/Gal<sub>p</sub>, 69:31). Assim como nas reações descritas anteriormente, o produto maioritário ocorre na forma de furanose **72**. A identificação do composto foi feita por <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN, através dos sinais de prótons e carbonos anoméricos a 6,23 ppm e 6,25 ppm e a 93,8 e 100,6 ppm, correspondentes aos anómeros α/β (1:2), respetivamente. Estes desvios químicos obtidos correspondem aos valores descritos na literatura<sup>76</sup>. A proporção obtida de Gal<sub>f</sub>/Gal<sub>p</sub> no produto da reação de acetilação é semelhante às proporções obtidas para as reações de benzilação e hidrólise previamente descritas.

Para além da forma de furanose, previamente descrita, também se identificou no espetro de <sup>1</sup>H RMN, os sinais de prótons anoméricos correspondentes aos anómeros α/β (1.3:1) da estrutura de piranose. A identidade do composto foi confirmada pela análise espectroscópica por <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN e comparada com os valores obtidos na literatura<sup>76,82</sup>. Verificou-se a

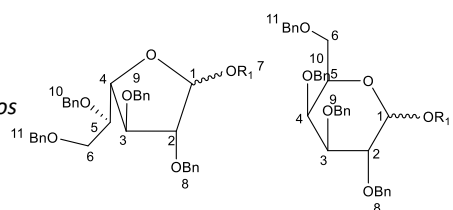
formação de ambas as conformações  $\alpha/\beta$ , 1.3:1 através dos sinais de dupletos a 6,38 ppm e 5,58 ppm dos prótons anoméricos correspondentes e dos sinais de C1 a 90,9 e 90,4 ppm, respetivamente. Estes apresentam constantes de acoplamento de 3,8 Hz e 8,1 Hz que correspondem a acoplamentos entre prótons axial-equatorial e axial-axial, respetivamente.



**Figura 2.19** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do produto da reação de acetilação (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

Enquanto que para as estruturas na forma de piranose, existe uma proporção equivalente dos anómeros  $\alpha/\beta$ , no caso da furanose, ocorre formação preferencial do anómero  $\beta$ . Esta conformação é favorecida devido ao impedimento estérico do substituinte na posição 2. No caso da galactose, este está orientado para baixo e por conseguinte, a conformação mais estável ocorre quando o substituinte anomérico tem orientação  $\beta$ .

**Tabela 7** - Comparação da distribuição dos produtos e dos desvios químicos do próton anomérico para os vários compostos derivados da D-galactose



		Distribuição de produtos (%)				$\delta$ H1 (ppm)			
		$\alpha$ -f	$\beta$ -f	$\alpha$ -p	$\beta$ -p	$\alpha$ -f	$\beta$ -f	$\alpha$ -p	$\beta$ -p
<b>62/70</b>	<b>R1=Bn</b>	71 <sup>a</sup>	—	29 <sup>a</sup>	—	4,96		4,99	
		68 <sup>b</sup>							
<b>63/71</b>	<b>R1=H</b>	49 <sup>a</sup>	25 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	5,27	5,41	5,33	5,30
<b>64/72</b>	<b>R1=Ac</b>	22 <sup>a</sup>	47 <sup>a</sup>	18 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>	6,22	6,25	6,38	5,58

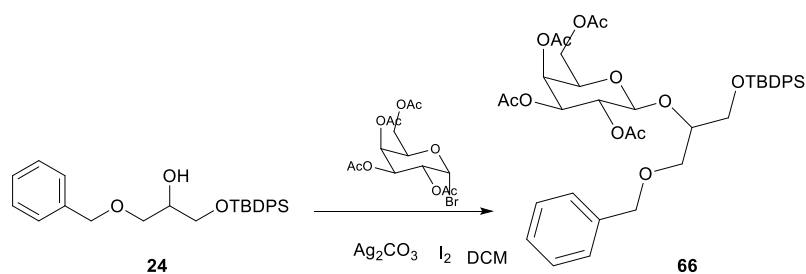
<sup>a</sup> Determinado por  $^1\text{H}$  RMN

<sup>b</sup> Produto isolado por coluna de cromatografia

Na tabela 7 são apresentados os valores de percentagem obtidos para a distribuição das formas de furanose e piranose para os compostos derivados da D-galactose **62/70**, **63/71** e **64/72**, bem como os desvios químicos correspondentes aos prótons anoméricos de cada um destes derivados. O rácio de Galf/Galp é definido na reação de benzilação e mantém-se ao longo dos passos reacionais seguintes (69-74%). Estes resultados sugerem que a reação de eterificação favorece a formação do anel de furanose.

## 2.4. Reações de acoplamento

Nesta secção são descritas várias reações de acoplamento entre unidades de açúcar derivados de galactose e vários derivados glicerol. Primeiramente, com o objetivo de testar vários procedimentos para a reação de acoplamento entre estes derivados, foi realizado um ensaio para o acoplamento entre um reagente comercial de  $\alpha$ -D-acetobromogalactose e um derivado glicerol protegido em ambos os grupos hidroxilo primários com substituintes Bn e TBDPS (figura 2.20).



**Figura 2.20** - Esquema reacional para o acoplamento entre o composto **24** e  $\alpha$ -D-acetobromogalactose

### 2.4.1. Proteção do glicerol

Para garantir que a reação de acoplamento ocorreria no grupo hidroxilo secundário do derivado glicerol, foi preparado um reagente de glicerol protegido seletivamente nos grupos hidroxilo primários. A sua preparação é simples, assim como o rendimento obtido é bastante superior, comparativamente à reação de fosforilação do glicerol e derivados.

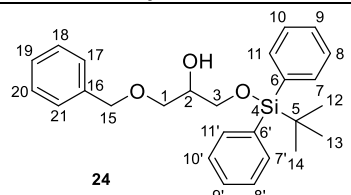
#### 2.4.1.1. Síntese de 1-O-benzil-3-O-(tert-butildifenilsilil)glicerol **24**

Para esta reação, foi utilizado como material de partida, o glicerol benzilado num dos grupos hidroxilo primários (composto **55** mencionado na secção 2.2.1.6). A proteção de alcoóis através da utilização de grupos silil éteres é uma prática muito comum na química

orgânica. Esta reação é geralmente catalisada por imidazol ou DMAP e ocorre na presença de uma base como trietilamina.

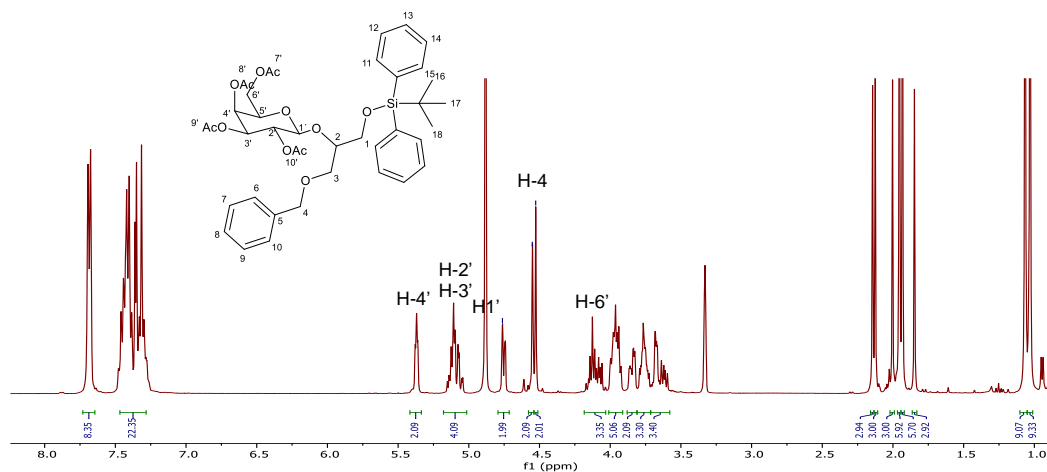
A obtenção do produto **24** isolado e purificado foi conseguida com um rendimento de 51%. A confirmação da sua identidade foi feita por  $^1\text{H}$  RMN. Na zona mais desblindada do espectro, 2 sinais com um integral total de 15 prótons correspondentes aos 3 anéis aromáticos monossubstituídos dos grupos Bn e grupos fenilo do TBDPS. Dois singuletos a 4.56 ppm e 1.04 ppm, que correspondem ao  $\text{CH}_2$  do grupo Bn e aos metilos do grupo TBDPS, respetivamente. Quanto aos prótons do esqueleto do glicerol, estes estão distribuídos em 3 sinais: um quintupletto a 3,87 ppm (H2), um multipletto a 3,74-3,64 ppm (H1, H3) e finalmente um dupletto de dupletos a 3,56 ppm (H3').

**Tabela 8** - Caracterizações do composto **24**;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

Composto	$^1\text{H}$ RMN
	7,68 (dt, $J = 6,6, 1,4$ Hz, 4H, Ar-H), 7,48 – 7,27 (m, 10H, Ar-H), 4,56 (s, 2H, H15), 3,87 (p, $J = 5,6$ Hz, 1H, H2), 3,74 – 3,64 (m, 3H, H1, H3), 3,56 (dd, $J = 9,8, 5,7$ Hz, 1H, H3'), 1,04 (s, 9H, H12/H13/H14)

#### 2.4.2. Síntese do composto derivado glicoglicerol **66**

Uma vez preparado o composto **24**, o passo seguinte consiste na reação deste com um reagente comercial de  $\alpha$ -D-acetobromogalactose. A reação ocorre na presença de um agente secante, *molecular sieves*, para evitar a hidrólise na posição anomérica do açúcar e na presença de um catalisador de  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ <sup>58</sup>. Uma vez que o produto da reação contém dois centros quirais em C2 e C1', foi obtida uma mistura de diastereoisómeros. Através da análise por  $^1\text{H}$  RMN pôde-se verificar o efeito dos grupos protetores acetilo na configuração do produto final, uma vez que só se formou o anómero  $\beta$ . O sinal correspondente ao próton ligado ao centro anomérico foi identificado através de HSQC e este apresenta um desvio de 4,76 ppm com uma constante de acoplamento de 7,8 Hz típica para acoplamento entre prótons axial-axial anomérico.



**Figura 2.21** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **66** (400 MHz,  $\text{MeOD-d}_4$ )

Na zona mais blindada do espectro de  $^1\text{H}$  RMN, um conjunto de sinais em duplicado para os grupos metilo dos substituintes acetilo e para os grupos *tert*-butil do substituinte TBDPS. Para os primeiros, um total de 8 sinais com integral total de 24 prótons divididos pelos dois diastereoisômeros tetra acetilados. No caso do substituinte TBDPS, um par de singletos com um integral de 9 prótons para cada um.

A atribuição dos sinais H1'-H6' foi conseguida através dos espectros de COSY, HMBC,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135. No espectro de COSY esta assinalada a correlação entre estes prótons, enquanto que através do espectro de HMBC foi possível observar a correlação entre os carbonos dos grupos carbonilo dos acetatos com cada um dos sinais no anel de piranose correspondentes.

Quanto ao  $\text{CH}_2$  do grupo benzilo, este apresenta um par de sinais singuleto a 4,53 e 4,55 ppm. No espectro de HMBC também é possível observar o acoplamento entre o carbono C-4 com os prótons do anel aromático do grupo benzilo.



### 3. Conclusões e perspectivas futuras

O trabalho descrito nesta tese teve como objetivo a preparação de um composto fosfoglicoglicerol. Esta pode ser dividida na síntese de dois fragmentos, um derivado halogenado de D-(+)-galactose e um derivado glicerofosfato, para uma posterior reação de acoplamento.

Com vista a estudar o efeito dos grupos participantes na configuração do composto final, foram descritos métodos para a preparação de derivados da galactose halogenada com grupos de proteção participantes (Bz) e não participantes (Bn). Para ambos os casos a principal via sintética consiste em dois passos reacionais, começando com uma reação de proteção dos grupos hidroxilo e seguindo uma halogenação na posição anomérica. Através desta via, apenas foi possível a obtenção do derivado protegido com grupos benzoílo, uma vez que o substituinte éster na posição anomérica é melhor grupo de saída do que o grupo éter, promovendo a reação de substituição nucleofílica nesta posição.

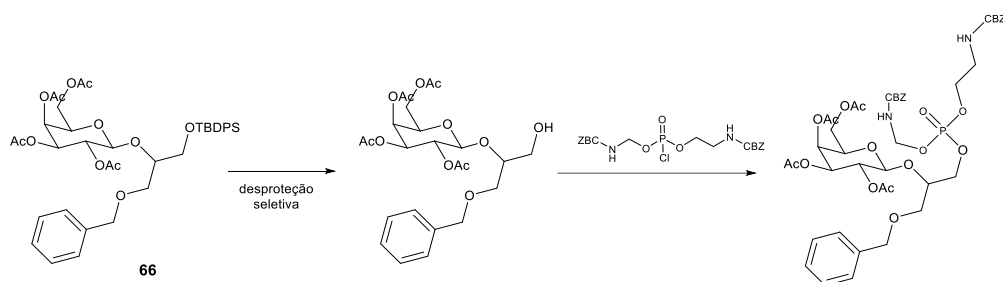
Uma vez que este método não funcionou para o derivado com grupos benzilo, optou-se por uma via sintética que consiste na acetilação da posição anomérica. Esta é uma prática comum na preparação de polissacáridos, dado que o grupo acetato é bom grupo de saída, favorecendo a substituição nucleofílica de substituintes anoméricos. O intermediário acetilado foi isolado, no entanto, não houve tempo para prosseguir para a reação seguinte de halogenação.

Para a preparação do segundo fragmento, derivado glicerofosfato foram descritos dois métodos sintéticos em que não foi possível a obtenção das estruturas pretendidas **51** e **57**. No entanto, para a primeira via, foi isolado um intermediário glicerofosfato **49** utilizado na reação seguinte de proteção e que resultou na formação de um composto cíclico estável **67**. Enquanto que a segunda via originou um composto **69** muito semelhante ao produto **57** com diferenças estruturais causadas por valores de pH bastante ácidos.

Devido à formação de um intermediário cíclico estável na primeira via, surgiu a necessidade de desenvolver um novo método para a preparação do composto desejado. Através da segunda via descrita, foi possível obter uma estrutura mais semelhante com o produto **57**, o composto **69**. No entanto, é necessário otimizar as condições reacionais, nomeadamente o número de equivalentes de base, de modo a evitar a remoção do grupo de proteção CBZ e a hidrólise de fosfatos.



Como trabalho futuro, outro método representado no esquema abaixo pode ser utilizado na preparação de glicoglicerofosfatos, partindo do composto **66**, cuja preparação foi descrita neste trabalho. Uma vez preparado, uma reação de desproteção seletiva para a remoção de um dos grupos de proteção do fragmento glicerol. Por fim, uma reação com o intermediário cloreto de di-N-Z-etanolamina fosfato preparado seguindo o último passo reacional da via B descrito na secção 2.1.1.5.



**Esquema 3.1** - Alternativa sintética para a preparação do glicoglicerofosfato

Na secção 2.1.1.2. foi descrita a tentativa de preparação de uma estrutura derivada glicerol **51** substituída nos grupos hidroxilo primários com TBDPS e um derivado fosfato. No entanto, devido à presença de um grupo hidroxilo secundário livre, ocorre ciclização intramolecular e formação de um intermediário cíclico estável.

Através da via proposta no esquema 3.1 é possível evitar a formação desse intermediário, uma vez que a reação com o composto de fósforo ocorre após a substituição dos restantes grupos hidroxilo do glicerol.

Apesar de não ter sido conseguida a preparação de um derivado de galactose com grupos não participantes, foi possível verificar o efeito dos grupos participantes na reação de acoplamento, uma vez que a conformação obtida foi  $\beta$  de acordo com o previsto na secção 1.7.



## 4. Procedimento Experimental

### 4.1. Preâmbulo geral

Todos os reagentes, solventes e eluentes utilizados nas diversas reações que compõem a parte experimental desta tese, foram adquiridos da Sigma-Aldrich, LaborSpirit, Alfa Aesar, Honeywell Riedel-de Hën, tendo sido utilizados sem posterior purificação, exceto quando é mencionada a sua utilização a seco. A secagem dos solventes foi realizada através da utilização de *molecular sieves* 3Å, previamente ativadas em micro-ondas, durante períodos de 1 minuto, intervalados com agitação, num total de 10 minutos. Após arrefecimento das *molecular sieves* e adição do respetivo solvente, este ficou a secar num período mínimo de 24 horas até a sua utilização<sup>83</sup>.

Para a pesagem de compostos, foram utilizadas duas balanças, CP225D (Sartorius) e Analytical Plus.

A evolução de todas as reações foi acompanhada por cromatografia de camada fina (TLC), utilizando placas de sílica gel 60 F254 com 0,2 mm de espessura em suporte de alumínio (Merck 5554). A revelação das TLC foi feita, primeiramente com recurso a uma lâmpada de ultravioleta ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ), e posteriormente, com a utilização de diversos reveladores químicos, como reagente de ninidrina,  $\text{KMnO}_4$ , ácido sulfúrico, reagente de ácido fosfomolibdico.

Alguns passos reacionais envolveram um processo de purificação em coluna de cromatografia de fase normal *flash*. Para tal, foi utilizada sílica gel 0,040-0,063 mm (230-400 mesh) (Merck 109385) e um fluxo de ar comprimido numa coluna com uma altura de sílica entre os 15-20 cm. O diâmetro da coluna foi escolhido de acordo com a massa total de amostra a separar<sup>84</sup>.

A caracterização dos compostos foi realizada através de espectroscopia de IV, espectroscopia de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN, e em alguns casos, espectroscopia de massa (*ESI-MS*).

Na análise por ressonância magnética nuclear (RMN), os espectros de protão ( $^1\text{H}$ ), de carbono ( $^{13}\text{C}$ ) e de fósforo ( $^{31}\text{P}$ ) os espectros foram adquiridos com um espectrómetro Bruker ARX400, a 400 MHz, 101 MHz e 162 MHz. Os valores das constantes de acoplamento,  $J$ , são apresentados em Hz. A apresentação dos dados é feita da seguinte maneira, para espectros de  $^1\text{H}$ -RMN: solvente deuterado utilizado, desvio químico (ppm), multiplicidade, constante de

acoplamento,  $J$ , intensidade relativa, para espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN: solvente e desvio químico. A referência utilizada são os sinais do solvente.

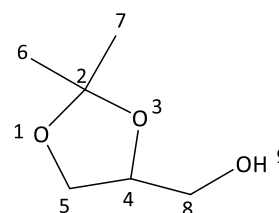
Para a caracterização dos compostos também foi utilizada espectroscopia de Infravermelho (IV) num espectrofotômetro Perkin Elmer, *Spectrum Two*. A aquisição dos espectros foi feita na gama de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  com 4 scans. Na descrição apenas são apresentadas as frequências de maior relevância e os dados foram indicados pela seguinte ordem: suporte da amostra, frequência máxima de absorção ( $\nu_{\text{max}}$  em  $\text{cm}^{-1}$ ) e atribuição ao grupo funcional.

## 4.2. Síntese e caracterização do glicerofosfato e intermediários

Nesta secção são descritos os procedimentos para a preparação de todos os compostos intermediários até à obtenção do glicerofosfato.

### 4.2.1. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol 44

A 500 mg (5,43 mmol) de glicerol num balão de fundo redondo foi adicionada gota a gota uma solução de iodo em acetona previamente seca (344 mg, 1,36 mmol, em 5 ml). A reação deixou-se prosseguir, com agitação e à temperatura ambiente até se ter observado o desaparecimento do material de partida por TLC

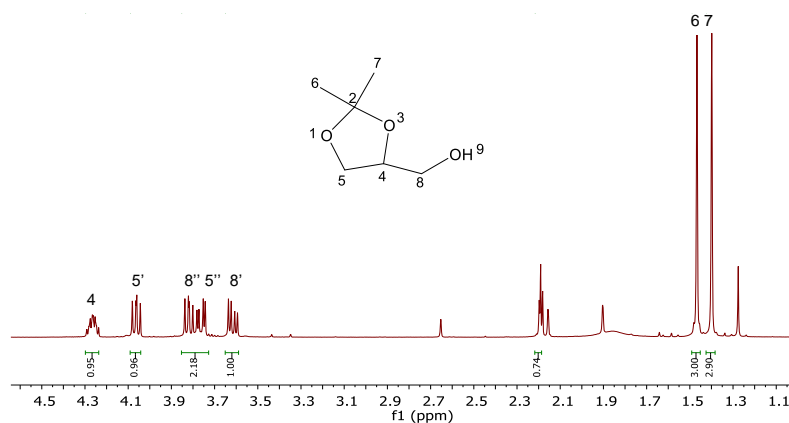


(hexano-AcOEt, 6:4, v/v). Ao fim de 2h, o excesso de iodo foi destruído pela adição de uma solução saturada de tiosulfato de sódio. O crude foi extraído com acetato de etilo (3 x 20 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com  $\text{H}_2\text{O}$ , secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentradas no evaporador rotativo. O composto obtido (600 mg, 4,54 mmol, 83%) foi caracterizado por IV,  $^1\text{H}$  RMN e  $^{13}\text{C}$  RMN.

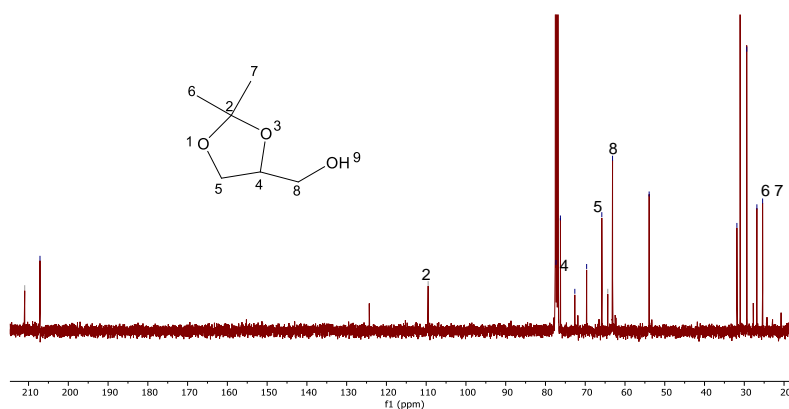
$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 3417 (O-H), 2986, 2935, 2685 (C-H alifático), 1047 (C-O)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4,30 – 4,24 (m, 1H, H4), 4,06 (dd,  $J = 8,1, 6,7$  Hz, 1H; H5), 3,85 – 3,73 (m, 2H, H8, H5'), 3,61 (dd,  $J = 11,7, 5,1$  Hz, 1H, H8'), 1,47 (s, 3H, H6), 1,40 (s, 3H, H7).

$^{13}\text{C}$  RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  210.96, 109.51 (C2), 76.24 (C4), 69.65, 65.83 ( $\text{CH}_2$ -5), 63.13 ( $\text{CH}_2$ -8), 53.92, 31.86, 31.05, 26.83 ( $\text{CH}_3$ ), 25.39 ( $\text{CH}_3$ ).



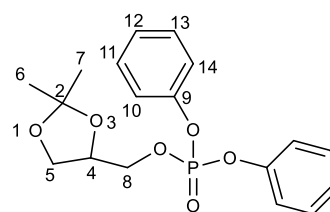
**Figura 4.1** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **44** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



**Figura 4.2** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **44** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

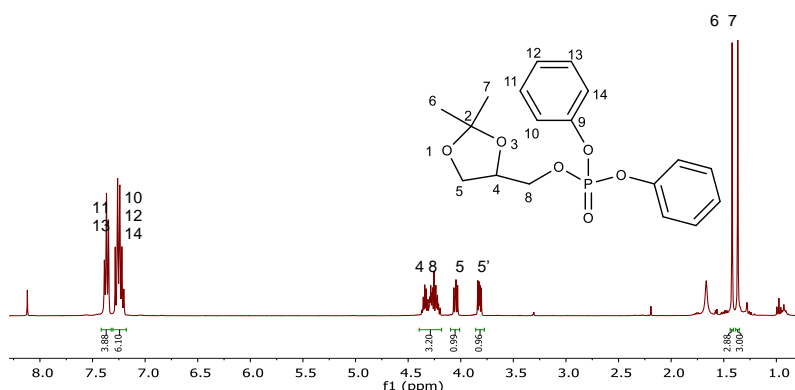
#### 4.2.2. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato **45**

A uma solução de difenilclorofosfato (0,17 mL; 0,94 mmol) e  $\text{NEt}_3$  (0,19 mL; 1,42 mmol) em THF (2 mL), sobre gelo, foi adicionada, gota a gota e com agitação vigorosa, uma solução do composto **44** em THF (104,5 mg, 0,79 mmol, em 2 mL). A reação foi seguida por TLC (hexano-AcOEt, 6:4, v/v) e ao fim de 24h adicionou-se mais difenilclorofosfato (0,072 mL; 0,4 mmol) e trietilamina (0,053 mL; 0,4 mmol). A reação foi terminada ao fim de 27h e o solvente foi removido no evaporador rotativo. O crude foi purificado em coluna de cromatografia com sílica flash usando como eluente uma mistura de hexano-AcOEt (6:4, v/v). O composto obtido (116 mg, 0,318 mmol, 40%) foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN.



$\nu_{\text{max}}$  (**cm**<sup>-1</sup>): 3066 (C-H Ar); 2986, 2935, 2889 (C-H alifático); 1187 (C-O).

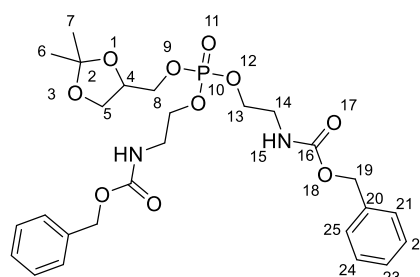
**$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$ : 7,37 (t,  $J$  = 7,9 Hz, 4H, H11, H13), 7,24 (dt,  $J$  = 14,9; 8,1 Hz, 6H, H10, H12, H14), 4,39 – 4,18 (m, 3H, H4, H8), 4,05 (dd,  $J$  = 8,6; 6,3 Hz, 1H, H5), 3,82 (dd,  $J$  = 8,7; 5,3 Hz, 1H, H5'), 1,42 (s, 3H, H6), 1,37 (s, 3, H7).



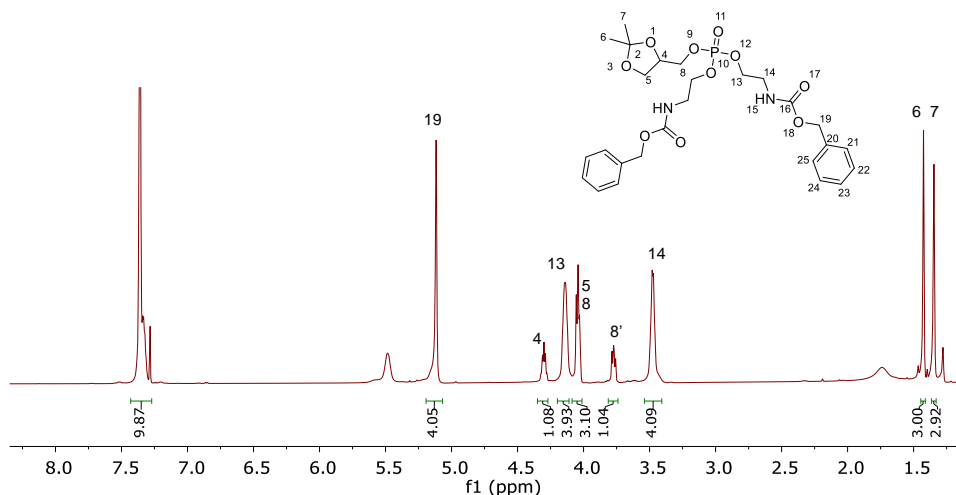
**Figura 4.3** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **45** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

#### 4.2.3. Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-Etanolamina) fosfato **47**

**Método A:** A uma solução do composto **45** dissolvida em THF (0,16 mmol; 58,5 mg; em 1 mL) num balão de fundo adicionaram-se, à temperatura ambiente, 69 mg de N-Z-Etanolamina (0,35 mmol). A reação foi seguida por TLC (hex-AcOEt, 6:4, v/v) e ao fim de 4h, a temperatura foi aumentada para 50 °C e a reação permaneceu em agitação *overnight*. Após 24h de reação foram adicionados 9 mg de NaH (0,35 mmol) e 2h depois a reação foi terminada e o solvente foi removido no evaporador rotativo. O crude foi lavado com éter de petróleo (2 x 20 mL) para remover vestígios de fenol e com éter etílico (2 x 20 mL) para remover N-Z-Etanolamina em excesso. O produto foi purificado em placa preparativa de cromatografia usando como eluente uma mistura de MeOH-DCM (5%, v/v) e foi obtido com 15% de rendimento (14 mg, 0,024 mmol).



**$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$ : 7,43 – 7,27 (m, 10H-Ar), 5,12 (s, 4H, H19), 4,30 (q,  $J$  = 5,3 Hz, 1H, h4), 4,14 (t, 4H, H13), 4,04 (t,  $J$  = 6,0 Hz, 3H, H5, H8), 3,81 – 3,74 (m, 1H, H8'), 3,54 – 3,41 (m, 4H, H14), 1,42 (s, 3H, H6), 1,35 (s, 3H, H7).

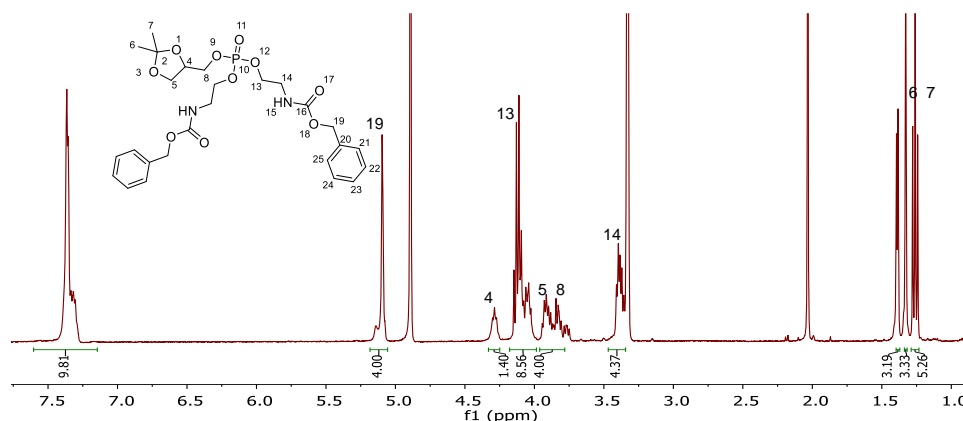


**Figura 4.4** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **47** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

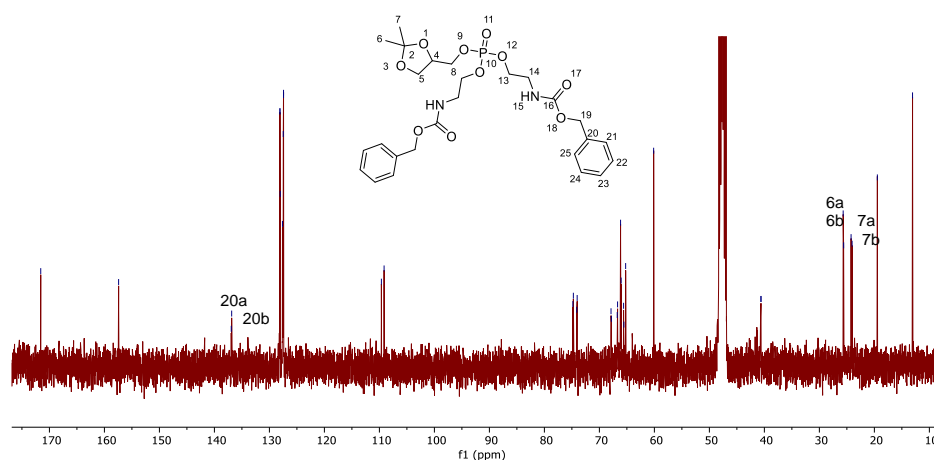
**Método B:** Num balão de 50 mL de duas tubuladuras foram dissolvidos 2,72 mL de trietilamina (19,57 mmol) em 5 mL de THF e a solução foi arrefecida em banho de gelo e água. A esta solução, foram adicionados 0,18 mL de  $\text{POCl}_3$  (1,96 mmol), 0,248 mL de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol (1,96 mmol) diluídos em 2 mL de THF e a mistura reacional foi aquecida até à temperatura ambiente onde permaneceu em agitação. Ao fim de 1h, após se verificar o desaparecimento do cetal no meio reacional por TLC (4/6, hex/AcOEt), foram adicionados mais 763 mg de etanolamina CBZ (3,91 mmol) dissolvidos em 5 mL de THF. A reação ficou em agitação à t.a. *overnight* e o *workup* foi feito filtrando o precipitado e removendo o solvente no evaporador rotativo. O crude foi purificado por coluna de cromatografia com sílica *flash* usando como eluente uma mistura de hex/AcOEt (1/9). O produto **47** foi obtido com um rendimento de 57% (636 mg, 1,12 mmol) e este foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN e IV.

**$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD):**  $\delta$  7,60 – 7,15 (m, 10H), 5,09 (d,  $J$  = 2,9 Hz, 4H), 4,28 (d,  $J$  = 6,3 Hz, 1H), 4,18 – 3,99 (m, 9H), 3,96 – 3,78 (m, 4H), 3,38 (dt,  $J$  = 10,6; 5,4 Hz, 4H), 1,39 (d,  $J$  = 4,6 Hz, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,26 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 5H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, MeOD):**  $\delta$  171.58, 157.42, 136.94, 136.86, 128.08, 128.03, 127.62, 127.53, 127.48, 127.43, 109.64, 109.14, 74.82, 74.73, 74.11, 74.04, 67.88, 67.82, 66.75, 66.69, 66.15, 66.04, 65.60, 65.55, 65.23, 60.13, 48.23, 48.02, 47.81, 47.60, 47.38, 47.17, 46.96, 40.62, 25.67, 25.59, 24.23, 24.05,



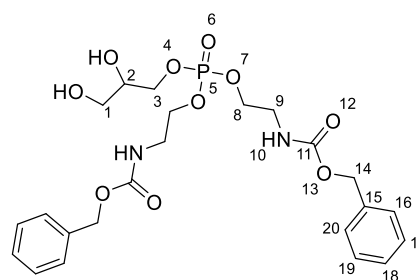
**Figura 4.5** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **47** (400 MHz, MeOD- $d_4$ )



**Figura 4.6** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **47** (101 MHz, MeOD- $d_4$ )

#### 4.2.4. Síntese de 3-((oxi(di-N-Z-etanolamina fosfato)) propano-1,2-diol **49**

A um balão de fundo redondo, adicionaram-se 100 mg de composto **47** (0,176 mmol) diluído em 2 mL de uma solução de  $\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$  (1/3, v/v). A mistura ficou em agitação à temperatura ambiente, em atmosfera inerte durante 2.30h. A reação foi acompanhada por TLC usando como eluente uma mistura de DCM-metanol (10%, v/v). Após se verificar a presença de material de partida, adicionou-se mais 0,5 mL de AcOH. Verificou-se por TLC a evolução da reação, no entanto, após se confirmar que ainda havia material de partida, voltou a adicionar-se mais 0,5 mL de AcOH. Este processo foi repetido até a obtenção de uma solução de AcOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (1/6, v/v) no meio reacional. A reação foi terminada com a adição de tolueno (3 x 5 mL) para promover a formação de azeótropo





com o solvente da reação que foi removido no evaporador rotativo. O produto crude foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN.

$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 3405 (O-H); 2984 (C-H Ar); 2895 (C-H Alifático), 1710 (C=O); 1254, 1044 (C-O).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,41 – 7,29 (m, 10H, CH-Ar), 5,11 (d,  $J$  = 7,4 Hz, 4H), 4,16 – 4,07 (m, 4H), 3,87 (dt,  $J$  = 9,9, 5,0 Hz, 1H), 3,78 – 3,69 (m, 2H), 3,62 (ddt,  $J$  = 16,7, 11,4, 4,8 Hz, 2H), 3,50 – 3,36 (m, 4H).

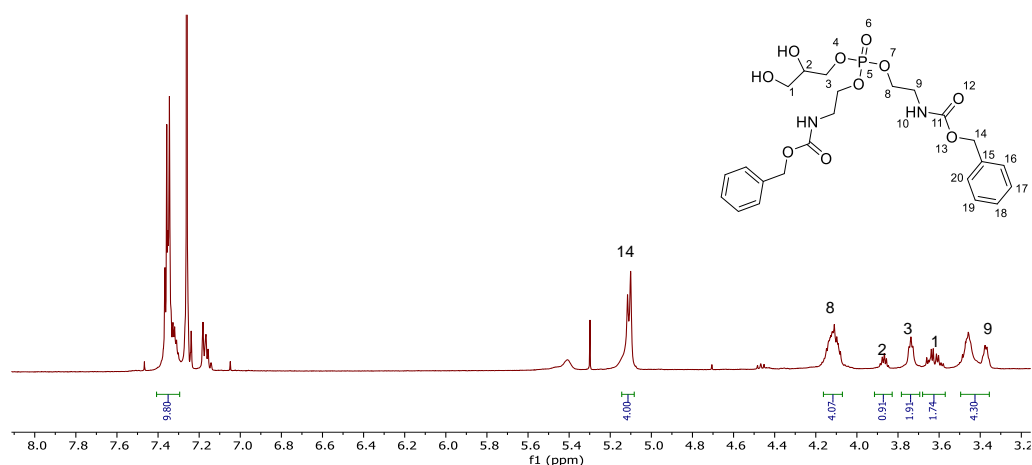
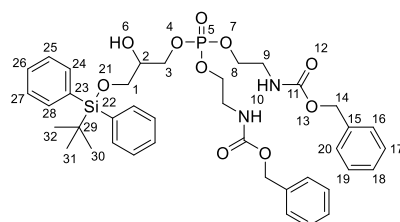


Figura 4.7 - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **49** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

#### 4.2.5. Síntese de 3-((tert-butildifenil silil)oxi)propano-1-di(N-Z-etanolamina)fosfato **51**

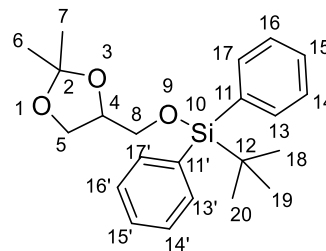
Num balão de fundo redondo de 25 mL foram dissolvidos 120 mg do composto **49** (0,228 mmol) em 2 mL de diclorometano previamente seco e a solução foi arrefecida em banho de gelo e água à temperatura de 0 °C. De seguida adicionou-se  $\text{NEt}_3$  (0,095 mL, 0,68 mmol), 4-DMAP (2,78 mg, 0,022 mmol) e TBDPSCI (0,062 mL, 0,273 mmol) e a mistura reacional foi aquecida à temperatura ambiente. A evolução da reação foi acompanhada por TLC (MeOH/DCM, 10%) e esta foi terminada ao fim de 2h com a adição de 5 mL de uma solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . A fase orgânica foi extraída com 3 x 20 mL de AcOEt, seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentrada no evaporador rotativo e purificada em coluna de cromatografia com sílica *flash*. Foram utilizados dois eluentes, primeiramente uma solução de Hex/AcOEt (9:1) que permitiu



isolar o composto **58** e recuperar TBPSCl em excesso e de seguida uma solução de Hex/AcOEt (3:7) para isolar N-Z-Etanolamina libertada no meio reacional. Todas as frações foram caracterizadas por  $^1\text{H}$  RMN.

#### 4.2.6. Síntese de 4-((tert-butil difenilsilano) metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano **52**

A um balão de fundo redondo de 25 mL, foram adicionados 104 mg de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol (0,78 mmol) diluídos em 5 mL de DCM seco. A esta solução foram adicionados 0,33 mL de trietilamina (2,36 mmol), 0,3 mL de TBPSCl (1,18 mmol) e 9,6 mg de DMAP (0,08 mmol). A mistura reacional ficou em agitação à temperatura ambiente durante 2h

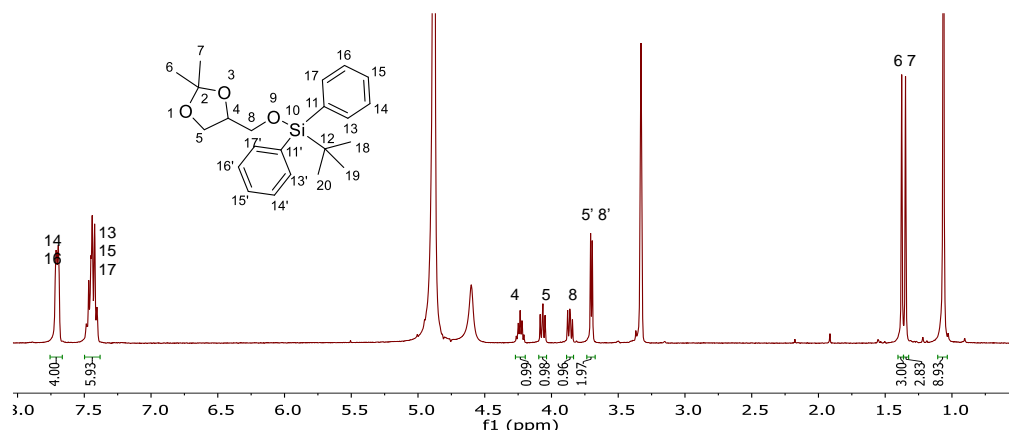


sendo que se verificou a conclusão da reação por TLC usando como eluente Hex/AcOEt (9:1). Uma vez concluída a reação, foram adicionados 10 mL de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  seguido de extrações com AcOEt (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e filtradas e a solução foi concentrada sob pressão reduzida e seca na linha de vácuo. O crude foi purificado por coluna de cromatografia com sílica *flash* usando o mesmo eluente utilizado para seguir a reação, obtendo-se 160 mg (0,43 mmol, 55%) do composto **52**, caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN.

$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 3074 (C-H Ar); 2935, 2859 (C-H alifático); 1111 (O-H).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD):  $\delta$  7,76 – 7,66 (m, 4H, H14, H16), 7,44 (dq, J = 14,2; 7,1 Hz, 6H, H13, H15, H17), 4,23 (p, 1H, H4), 4,10 – 4,04 (m, 1H, H5), 3,89 – 3,83 (m, 1H, H8), 3,70 (d, J = 5,0 Hz, 2H, H5'/H8'), 1,38 (s, 3H, H6), 1,35 (s, 3H, H7), 1,06 (s, 9H, H18/H19/H20).

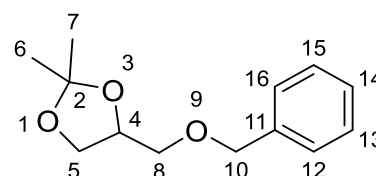
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ : 7,68 (d, J = 7,3 Hz, 4H), 7,45 (dq, J = 14,1; 6,9 Hz, 6H), 3,83 (q, J = 5,1 Hz, 1H), 3,79 – 3,69 (m, 3H), 3,66 (dd, J = 11,5; 5,6 Hz, 1H), 1,10 (s, 9H).



**Figura 4.8** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **52** (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

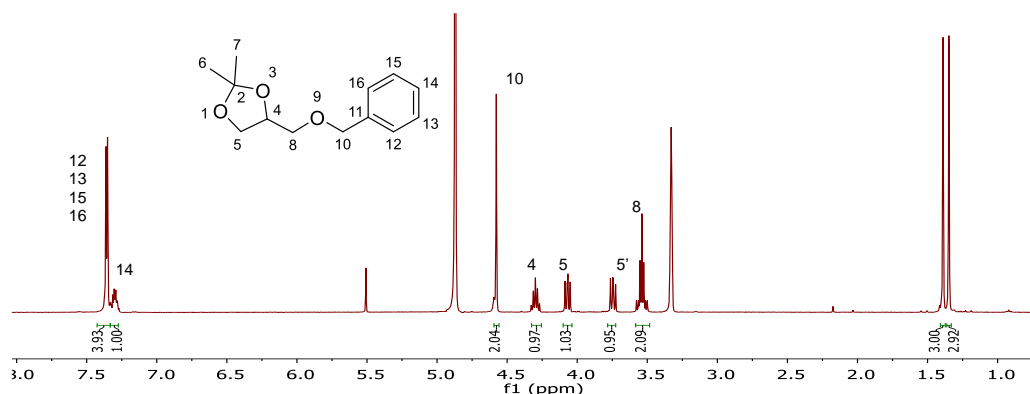
#### 4.2.7. Síntese de 4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano **53**

A um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados 500 mg de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol (3,78 mmol) diluídos em 5 mL de THF seco. A mistura foi arrefecida em banho de água e gelo e, após alguns minutos, foram adicionados 118 mg de NaH (4,92 mmol). A solução foi aquecida até à t.a. e foram adicionados 0,66 mL de brometo de benzilo (4,92 mmol). A monitorização da reação foi feita por TLC (Hex/AcOEt; 7:3), tendo sido esta terminada ao fim de 5 dias. A fase orgânica foi posteriormente lavada com  $\text{H}_2\text{O}$  e extraída com AcOEt (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram juntas e concentradas no evaporador rotativo. O crude foi purificado por coluna de cromatografia com sílica flash, usando o mesmo eluente do TLC. Foram obtidos 600 mg do composto **53** (2,7 mmol; 71%) caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN.



$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 2984 (C-H Ar); 2935, 2864 (C-H alifático); 1093 (C-O).

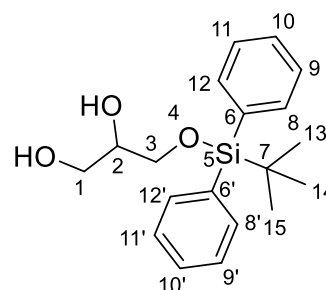
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  7,36 (d,  $J$  = 4,4 Hz; 4H, H12/H13/H15/H16), 7,33 – 7,27 (m, 1H, H14), 4,58 (s, 2H, H10), 4,29 (q,  $J$  = 5,8 Hz, 1H, H4), 4,07 (dd,  $J$  = 8,2; 6,5 Hz; 1H, H5), 3,74 (dd,  $J$  = 8,2; 6,4 Hz, 1H, H5'), 3,54 (h,  $J$  = 5,2 Hz; 2H, H8), 1,39 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).



**Figura 4.9** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **53** (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

#### 4.2.8. Síntese de 3-((tert-butildifenil isilil)oxi)propano1,2-diol **54**

**Método A:** A um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionaram-se 100 mg de composto **52** (0,27 mmol) que foram dissolvidos em 5 mL de  $\text{CHCl}_3$ . A evolução da reação foi acompanhada por TLC Hex/AcOEt (7/3). Ao fim de 1 semana, esta foi terminada com a remoção do solvente no evaporador rotativo. O crude foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN onde se verificou que a abertura do acetal não foi completa. O espectro mostra sinais de material de partida e do produto desejado numa proporção de 1:5.



$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  7,59 (d,  $J$  = 6,4 Hz, 4H), 7,31 (q,  $J$  = 7,7; 6,5 Hz, 6H), 4,15 – 4,09 (m, 0H), 3,99 – 3,92 (m, 0H), 3,75 (d,  $J$  = 6,4 Hz, 0H), 3,68 – 3,52 (m, 4H), 3,46 (dd,  $J$  = 10,8, 5,7 Hz, 1H), 1,26 (s, 0H), 1,23 (s, 0H), 0,95 (s, 9H).

**Método B:** A um balão de fundo redondo de 25 mL, foram adicionados 160 mg de composto **52** (0,43 mmol) que foram dissolvidos em 5 mL de uma solução de  $\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$  (1:5). A monitorização da reação foi feita por TLC Hex/AcOEt (7/3). Ao fim de 24h, esta foi terminada e o solvente removido no evaporador formando azeótropo com tolueno (3 x 5 mL). Foram obtidos 128 mg de composto **54** (90%; 0,39 mmol) caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN.

$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 3382 (O-H); 3064 (C-H Ar); 2928, 2857 (C-H alifático); 1111 (C-O).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD- $d_4$ )  $\delta$  7,77 – 7,68 (m, 4H, H9, H11), 7,42 (dt,  $J$  = 16,2, 8,1 Hz, 6H, H8, H10, H12), 3,75 (d,  $J$  = 6,6 Hz, 1H, H2), 3,72 – 3,66 (m, 2H, H1), 3,63 – 3,52 (m, 2H, H3), 1,06 (s, 9H, H13, H14, H15).

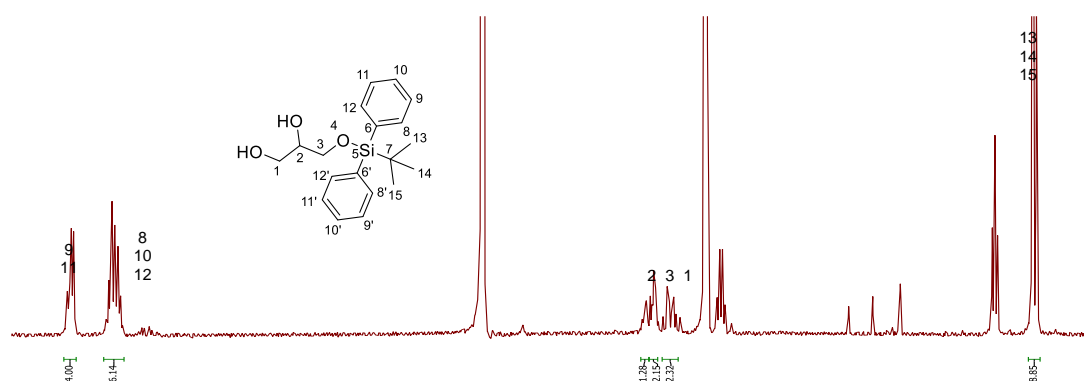
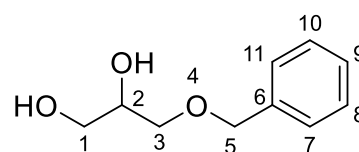


Figura 4.10 - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **54** (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

#### 4.2.9. Síntese de 3-(benziloxy)propano-1,2-diol **55**

A um balão de fundo redondo, foram adicionados 597 mg de composto **53** (2,69 mmol) dissolvidos em 10 mL de uma solução de AcOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (4:1). A mistura reacional ficou em agitação à temperatura ambiente durante 24h onde se verificou a conclusão da reação por TLC (hex/AcOEt; 6:4). A água foi removida no evaporador rotativo, formando azeótropo com tolueno. O produto foi obtido na forma de óleo (518 mg, 2.84 mmol) e procedeu-se à reação seguinte sem qualquer passo de purificação.



$\nu_{\text{max}}$  (**cm** $^{-1}$ ): 3396 (O-H); 2922 (C-H Ar); 2859 (C-H alifático); 1070 (C-O).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  7,38-7,36 (m,  $J$  = 7,8 Hz; 4H, H7/H8/H10/H11), 7,28 (t,  $J$  = 6,6 Hz, 1H, H9), 4,57 (s, 2H, H5), 3,81 (p,  $J$  = 5,6 Hz, 1H, H2), 3,58-3,53 (m, 4H, H1/H3).

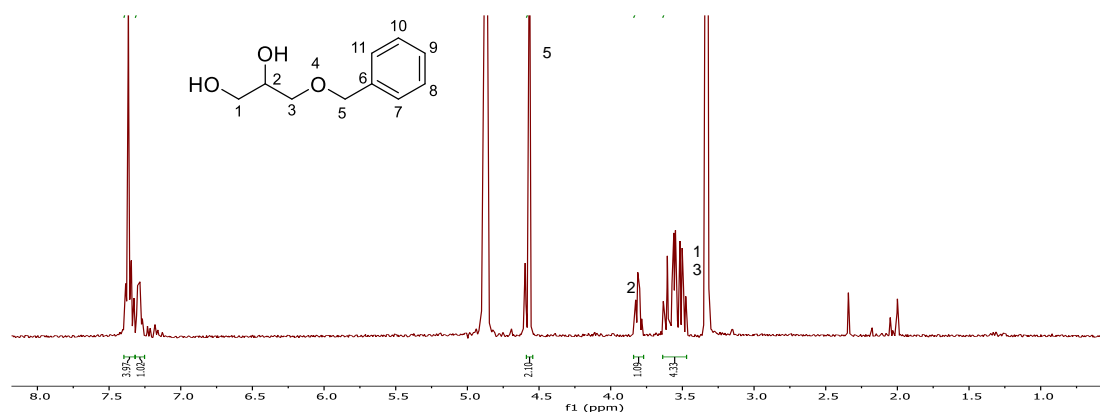
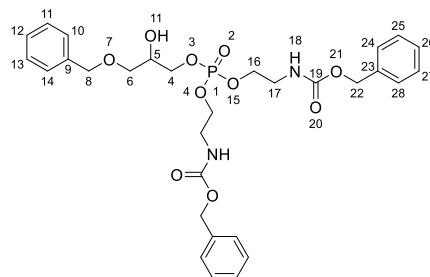


Figura 4.11 - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **55** (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

#### 4.2.10. Síntese de 6-(benziloxi)propano-4(oxi)-di(N-Z-etanolamina)fosfato 57

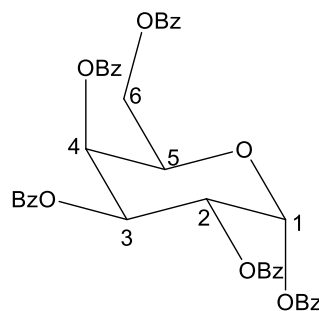
A um balão de 50 mL de duas tubuladuras foram adicionados 0,05 mL de  $\text{POCl}_3$  (10,55 mmol) dissolvidos em 1 mL de THF. A solução foi arrefecida a  $-78^\circ\text{C}$  com banho de acetona e  $\text{N}_2$  líquido. De seguida, foram adicionados 0,23 mL de  $\text{NEt}_3$  (1,7 mmol) ao longo de 5 min. Mantendo a temperatura nos  $-78^\circ\text{C}$ , foram adicionados 118 mg de N-Z-Etanolamina (0,6 mmol) e a reação foi seguida por TLC (Hex/AcOEt; 3:7). Ao fim de 30 min, após se verificar o desaparecimento de N-Z-Etanolamina no meio reacional, foram adicionados mais 118 mg (0,6 mmol) mantendo a temperatura cerca de  $-78^\circ\text{C}$ . Ao fim de 2h de reação, foram adicionados 100 mg de composto X (0,55 mmol) e a temperatura foi aumentada para t.a. A reação ficou *overnight* e o *workup* foi feito filtrando o precipitado e removendo o solvente no evaporador rotativo. O crude foi purificado por coluna de cromatografia com sílica *flash* usando como eluente uma mistura de DCM/MeOH (10%). O produto foi caracterizado por  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN.



### 4.3. Reações de derivatização da galactose

#### 4.3.1. Síntese de 1,2,3,4,6-penta-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil 60

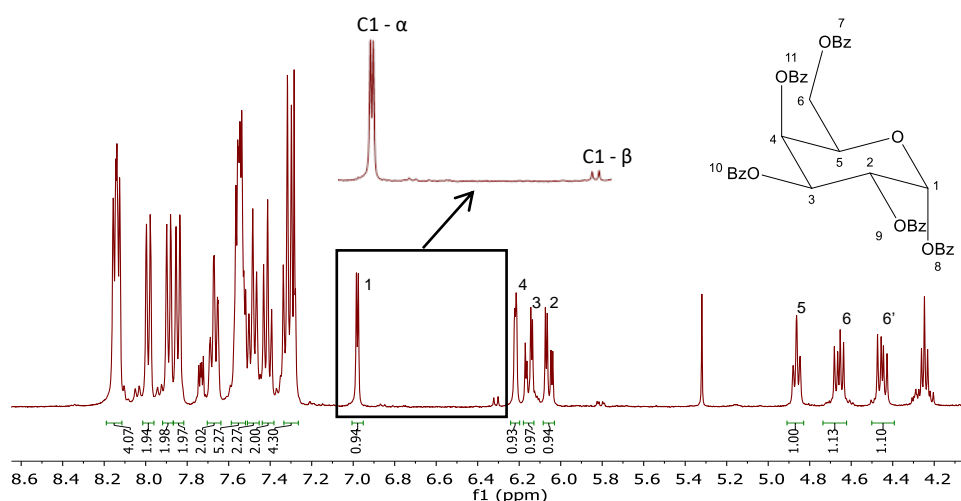
Num balão de três tubuladuras, com um tubo de proteção de  $\text{CaCl}_2$ , um funil de carga isobárico com rolha e um termómetro, colocaram-se 2.5 mL de piridina e 2 mL de DCM previamente seco. A mistura foi arrefecida em banho de gelo-sal à temperatura de  $-10^\circ\text{C}$  e adicionou-se pelo funil de carga, uma solução de cloreto de benzoílo em DCM (2.15 mL, 17.76 mmol, em 2 mL) previamente arrefecida. Em seguida, removeu-se o funil de carga e adicionou-se 1g (mimol) de  $\alpha$ -D-Galactose com um funil de carga para sólidos, mantendo a temperatura da mistura reacional abaixo dos  $10^\circ\text{C}$ . A mistura ficou em agitação à temperatura ambiente tendo-se seguido o desenrolar por TLC (hexano-AcOEt, 8:2, v/v). Ao fim de 24h, adicionaram-se 10 mL de DCM e transferiu-se a mistura para uma ampola de decantação, onde foi lavada com porções sucessivas de 10 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (2M),  $\text{H}_2\text{O}$ , uma solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o DCM foi



removido no evaporador rotativo. O crude foi purificado em coluna de cromatografia com sílica *flash* usando como eluente uma mistura de hexano-AcOEt (6:4, v/v). O composto obtido (645 mg; 0.92 mmol, 16,6%) foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN.

**P.f.:** 159-162 °C  **$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ):** 3065 (C-H Ar); 2967 (C-H alifático); 1723 (C=O); 1249 (C-O).

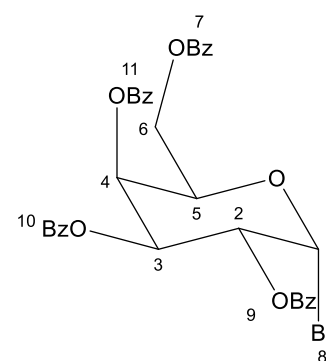
**$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8,19 – 8,11 (m, 4H, Ar-H), 7,99 (d,  $J = 7,2$  Hz, 2H, Ar-H), 7,89 (d,  $J = 7,3$  Hz, 2H, Ar-H), 7,84 (d,  $J = 7,3$  Hz, 2H, Ar-H), 7,70 – 7,64 (m, 2H, Ar-H), 7,59 – 7,52 (m, 5H, Ar-H), 7,48 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H, Ar-H), 7,41 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, Ar-H), 7,33 – 7,26 (m, 4H, Ar-H), 6,98 (d,  $J = 3,6$  Hz, 1H, H1), 6,22 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H4), 6,15 (dd,  $J = 10,7, 3,2$  Hz, 1H, H3), 6,06 (dd,  $J = 10,7, 3,6$  Hz, 1H, H2), 4,86 (t,  $J = 6,6$  Hz, 1H, H5), 4,66 (dd,  $J = 11,3, 6,4$  Hz, 1H, H6), 4,45 (dd,  $J = 11,3, 7,0$  Hz, 1H, H6').



**Figura 4.12** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **60** (400 Hz,  $\text{CDCl}_3$ )

#### 4.3.2. Síntese de Brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil **58**

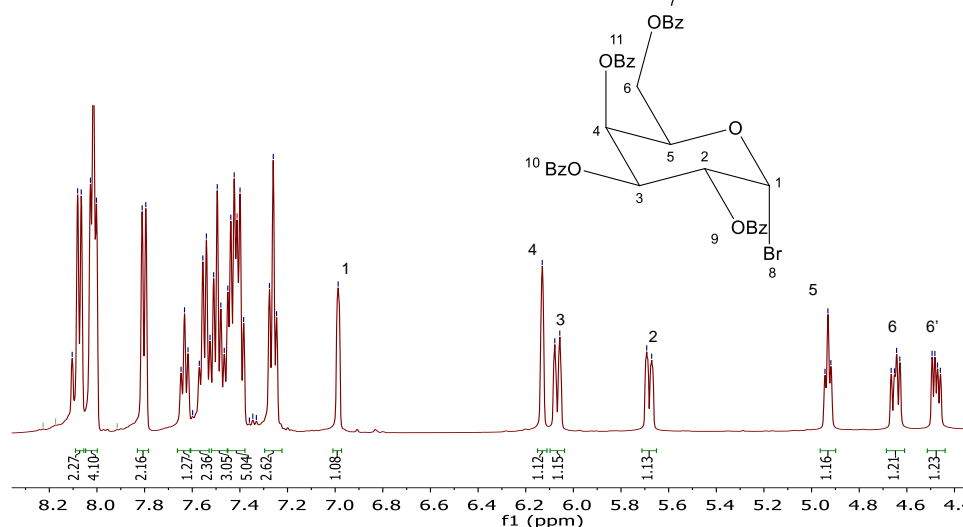
**Método A:** A 200 mg (0.28 mmol) de  $\alpha$ -D-Galactose benzoílada num balão de fundo redondo de 25 mL adicionaram-se 2 mL de 1,2-dicloroetano. Quando todo o sólido foi dissolvido, adicionaram-se 2 mL de uma solução de HBr em ácido acético (75% w/v). A reação foi seguida por TLC (hexano-AcOEt, 8:2, v/v) e foi terminada ao fim de 24h. A mistura reaccional foi lavada com várias porções de uma solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , água e foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Não se conseguiu obter o composto desejado e, portanto, foi estudado o método alternativo B.



**Método B:** Num balão de fundo redondo de 25 mL colocou-se 1 mL de HOAc, ao qual, foram adicionados 44 ml brometo de acetilo (0,044 mL, 0,61 mmol, 3.9 eq) e 25 ml de CH<sub>3</sub>OH (0,025 mL, 0,6 mmol, 3,9 eq) e a mistura ficou em agitação à temperatura ambiente. Ao fim de 15 min, adicionou-se 109 mg de  $\alpha$ -D-Galactose benzoíladada (0,16 mmol) e Ac<sub>2</sub>O (0,17 mL, 1,82 mmol, 11.67 eq). A mistura reacional ficou em agitação à temperatura ambiente durante 24h (seguida por TLC, mistura de hexano-AcOEt 8/2, v/v) e o solvente foi removido no evaporador rotativo. O produto crude foi purificado em coluna de cromatografia com sílica flash usando como eluente uma mistura de hexano-AcOEt (8:4, v/v). O composto foi obtido (38 mg, 0.057 mmol, 37%) e a sua identificação foi confirmada por <sup>1</sup>H RMN.

**$\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>):** 3064 (C-H Ar); 2913, 2868 (C-H alifático); 1746 (C=O); 1097 (C-O).

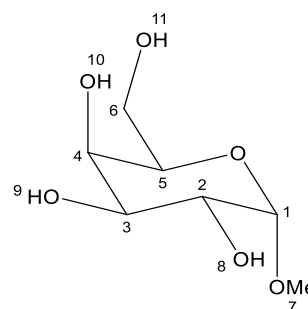
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  8,07 (d,  $J$  = 7,6 Hz, 2H, Ar-H), 8,01 (t,  $J$  = 6,3 Hz, 4H, Ar-H), 7,80 (d,  $J$  = 7,6 Hz, 2H, Ar-H), 7,63 (t,  $J$  = 7,3 Hz, 1H, Ar-H), 7,61 – 7,53 (m, 2H, Ar-H), 7,52 – 7,45 (m, 3H, Ar-H), 7,45 – 7,38 (m, 5H, Ar-H), 7,26 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H, Ar-H), 6,99 (s, 1H, H1), 6,13 (s, 1H, H4), 6,07 (d,  $J$  = 10,5 Hz, 1H, H3), 5,68 (d,  $J$  = 10,4 Hz, 1H, H2), 4,93 (t,  $J$  = 6,2 Hz, 1H, H5), 4,65 (dd,  $J$  = 11,3, 6,8 Hz, 1H, H6), 4,48 (dd,  $J$  = 11,5, 5,9 Hz, 1H, H6').



**Figura 4.13** - Espetro de <sup>1</sup>H RMN do composto **58** (500 Hz, CDCl<sub>3</sub>)

#### 4.3.3. Síntese de Metil $\alpha$ -D-Galactopiranosil **61**

A um balão de fundo redondo, que continha 500 mg de  $\alpha$ -D-Galactose (2,78 mmol) dissolvidos em metanol seco (2 mL), foram adicionados 0.197 mL de cloreto de acetilo (2,78 mmol). A mistura foi aquecida a refluxo durante 21h e a reação foi terminada com arrefecimento à t.a. e adição de H<sub>2</sub>O (1 mL). A mistura reacional foi neutralizada com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e os sais





inorgânicos formados, foram filtrados e o solvente removido no evaporador rotativo. O crude foi caracterizado por  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN e IV.

$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 3360 (O-H), 2924, 2853 (C-H Alifático)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4,84 (s, 2H), 4,05 – 3,70 (m, 18H), 3,57 (d,  $J$  = 6,2 Hz, 1H,  $\text{CH}_3$ - $\beta$ ), 3,42 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ - $\alpha$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  103,82 (C1- $\beta$ ), 99,39 (C1- $\alpha$ ), 75,13; 72,77; 70,72; 69,45; 69,20; 68,66; 68,16; 57,15 ( $\text{CH}_3$ - $\beta$ ); 55,00 ( $\text{CH}_3$ - $\alpha$ ).

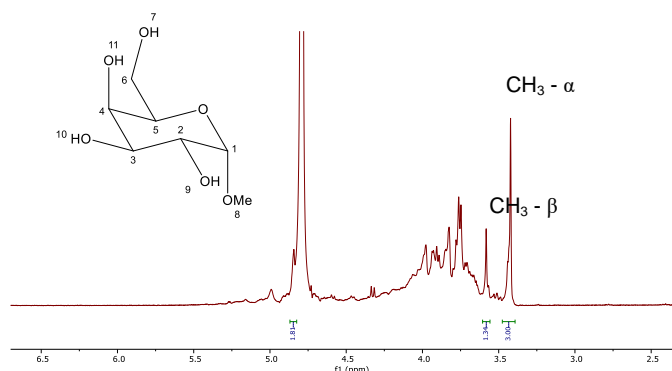


Figura 4.14 - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **61** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

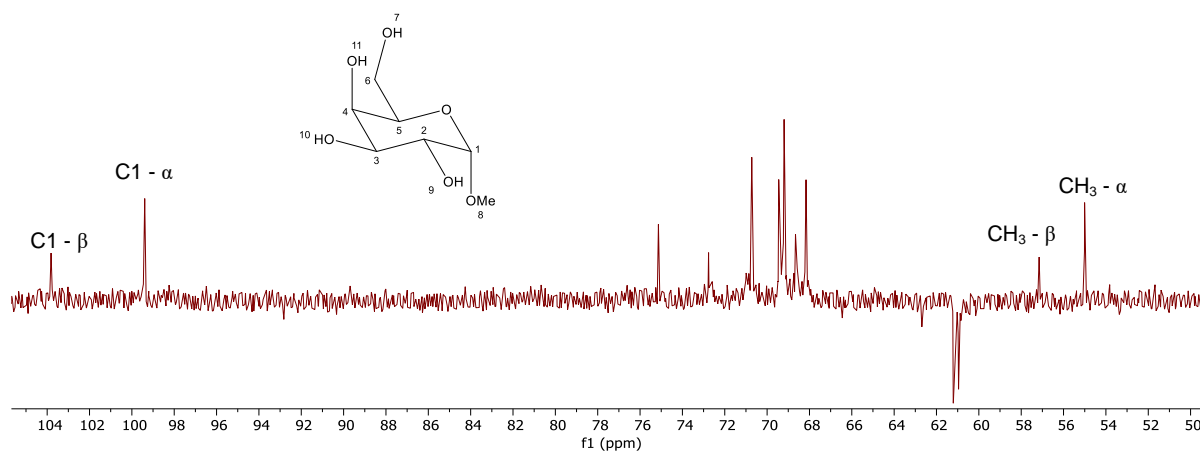
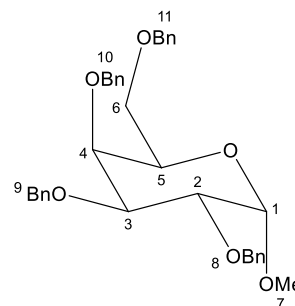


Figura 4.15 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **61** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

#### 4.3.4. Síntese de metil 2,3,4,6-tetra-*O*-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil

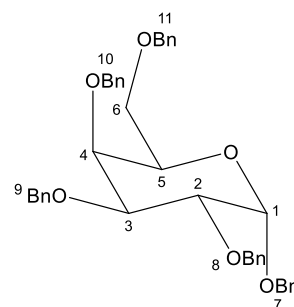
A um balão de fundo redondo, foram adicionados 100 mg de Metil  $\alpha$ -D-Galactopiranosil (0,515 mmol) dissolvidos em 3 mL de DMF seco. A mistura foi arrefecida em banho de gelo e água e foram adicionados 52 mg de NaH (2,16 mmol). Após alguns minutos, a solução foi aquecida e foram adicionados 0,26 mL de brometo de benzilo (2.16



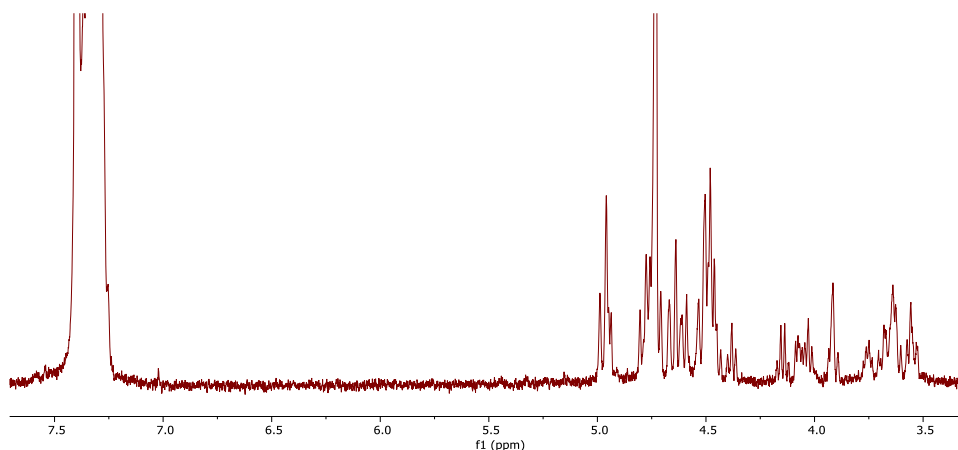
mmol) e 19 mg de TBAI (0.051 mmol) à t.a. A mistura reacional ficou em agitação à t.a. e a reação foi monitorizada por TLC (hexano/AcOEt; 9/1; v/v). Esta foi terminada ao fim de 5 dias com a adição de H<sub>2</sub>O para “destruir” o excesso de NaH. O crude foi lavado com AcOEt (3 x 20 mL) e com H<sub>2</sub>O (10 mL) e seco com MgSO<sub>4</sub>. O filtrado foi concentrado no evaporador rotativo e caracterizado por <sup>1</sup>H RMN.

#### 4.3.5. Síntese de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil-α-D-galactopiranosil 62

A um balão de fundo redondo, adicionaram-se 200 mg de α-D-Galactose (1,1 mmol) diluídos em 5 mL de DMF seco. A solução foi arrefecida em banho de gelo e água e foram adicionados 266 mg de NaH (60% dispersão em óleo mineral; 11.1 mmol). A mistura ficou em agitação durante 15 minutos à t.a. antes de serem adicionados 1.32 mL de brometo de benzilo (11.1 mmol). A mistura reacional permaneceu em agitação à t.a. durante 4 dias. Após se verificar que a reação estava completa por TLC (hexano/AcOEt; 9/1; v/v), o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o crude foi dissolvido em AcOEt (30 mL) e lavado com H<sub>2</sub>O (3 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada no evaporador rotativo. O resíduo crude foi purificado em coluna de cromatografia com sílica *flash* usando como eluente uma mistura de hexano/AcOEt (9/1; v/v) para obtenção de 220 mg de penta-O-benzil-α-D-galactofuranose/penta-O-benzil-α-D-galactopiranosose (2.5:1) (0,35 mmol; 31%). Este foi caracterizado por <sup>1</sup>H RMN. O produto maioritário penta-O-benzil-α-D-galactofuranose **70** foi isolado (150 mg; 0,24 mmol) e caracterizado por <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT, HMBC, HSQC e NOESY RMN.



**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 7,43 – 7,29 (m, 24H), 4.99 (s, 0.3H, H1-α-Galp), 4.95 (d, J = 4,2 Hz, 1H, H1-α-Galf), 4,63 (dd, J = 21.1, 10.9 Hz, 2H), 4.50 (q, J = 10.0, 7.5 Hz, 3H), 4.38 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 4.15 (q, J = 7.3 Hz, 1H), 4.05 (dt, J = 18.7, 5.8 Hz, 1H), 3.94 – 3.88 (m, 1H), 3.75 (s, 1H), 3.70 – 3.52 (m, 3H).



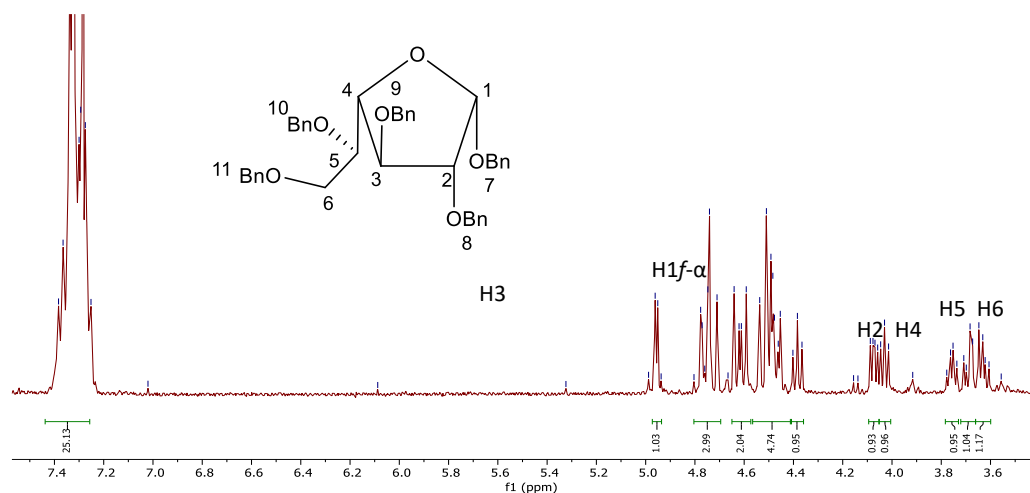
**Figura 4.16** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do produto da reação de benzilação (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

### 1,2,3,4,6-penta-*O*-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose **70**

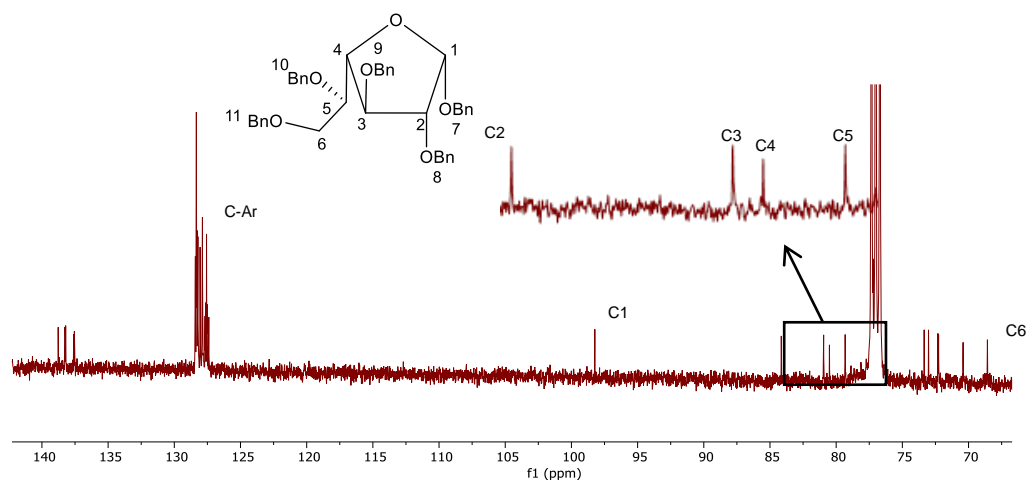
$\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3030 (C-H Ar); 2923, 2861 (C-H alifático); 1099 (C-O).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.44 – 7.26 (m, 25H), 4.96 (d,  $J = 4.2$  Hz, 1H, H1), 4.80 – 4.70 (m, 3H), 4.65 – 4.57 (m, 2H), 4.57 – 4.41 (m, 5H), 4.38 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H, H3), 4.07 (dd,  $J = 7.6$ , 4.4 Hz, 1H, H2), 4.05 – 4.01 (m, 1H, H4), 3.78 – 3.73 (m, 1H, H5), 3.69 (dd,  $J = 10.2$ , 4.1 Hz, 1H, H6), 3.63 (dd,  $J = 10.2$ , 6.3 Hz, 1H, H6').

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  138.77, 138.26, 138.21, 137.60, 137.55 (C-Ar), 128.41, 128.33, 128.29, 128.22, 128.05, 127.90, 127.87, 127.67, 127.64, 127.57, 127.53, 127.40 (CH-Ar), 98.23 (C1), 84.15 (C2), 80.95 (C3), 80.51 (C4), 79.32 (C5), 73.35, 73.02, 72.31, 72.26, 70.41, 68.57 (C6).



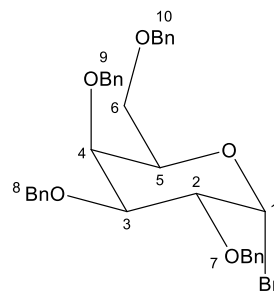
**Figura 4.17** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de 1,2,3,4,6-penta-*O*-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose **70** (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )



**Figura 4.18** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de 1,2,3,4,6-penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose **70** (101 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

#### 4.3.6. Síntese de Brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil **59**

A um balão de fundo redondo, foram adicionados 71 mg de  $\alpha$ -1,2,3,4,6-Penta-O-benzil galactose (0,11 mmol), dissolvidos em 4 mL de uma solução de HBr/AcOH (35%). A mistura reacional ficou em agitação à temperatura ambiente durante 4 dias sendo monitorizada por TLC, hex/AcOEt (7/3). Após terminada a reação, foram adicionados 20 mL de DCM à mistura reacional e esta foi lavada com

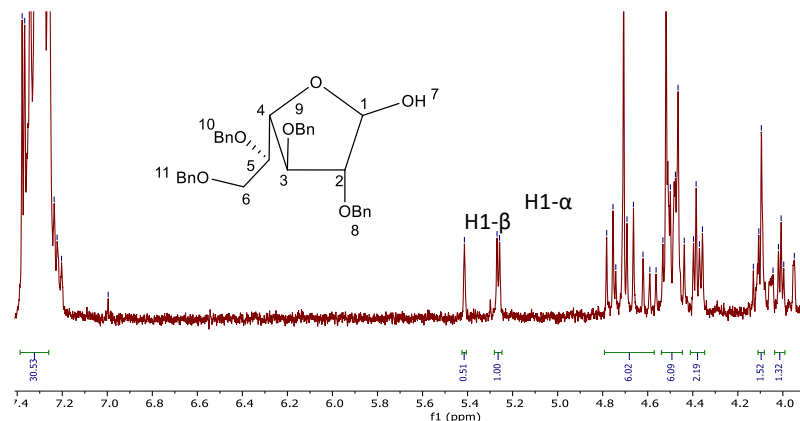


$\text{H}_2\text{O}$  (3 x 20 mL), com uma solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (1x 15 mL), e com uma solução saturada de NaCl (1 x 15 mL). O solvente foi posteriormente removido no evaporador rotativo e o óleo resultante foi purificado numa coluna de cromatografia com sílica *flash* usando o mesmo eluente para monitorizar a reação por TLC. Foram isoladas duas frações correspondentes a  $\alpha$ - e  $\beta$ - 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactopiranosil **63** (10.7 mg) e  $\alpha$ - e  $\beta$ - 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose **71** (30 mg).

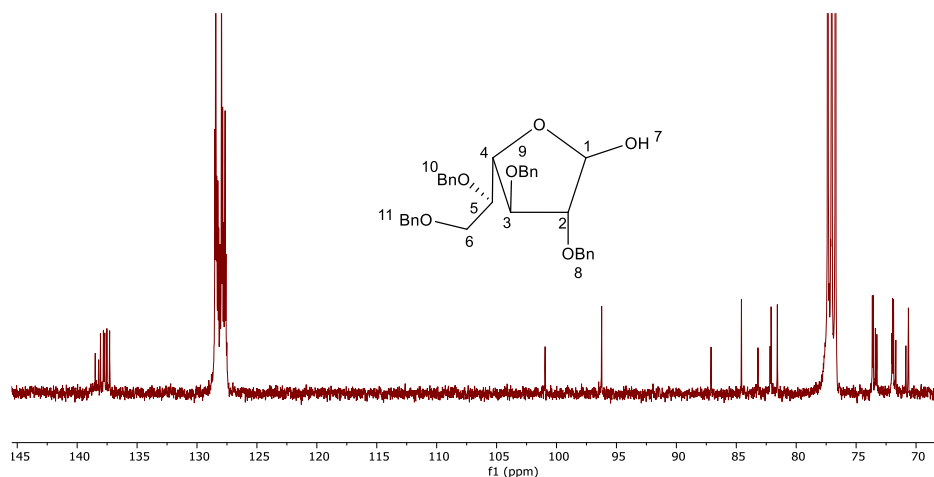
#### 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactofuranose (**71**)

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  138.49-137.29 (Cq Ph), 128.50-127.58 (CH Ph), 100.95 (C1- $\beta$ ), 96.24 (C1- $\alpha$ ), 87.10 (C2- $\beta$ ), 84.57 (C2- $\alpha$ ), 83.19 (C3- $\beta$ ), 82.18 (C4- $\beta$ ), 82.09 (C3- $\alpha$ ), 81.57 (C4- $\alpha$ ), 77.04 (C5- $\alpha$ ), 76.08 (C5- $\beta$ ) 73.65-71.69 ( $\text{CH}_2$ -Ph), 70.85 (C6- $\alpha$ ), 70.64 (C6- $\beta$ ).

**$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  7.39 – 7.26 (m, 31H), 5.41 (s, 1H, H1- $\beta$ ), 5.26 (d,  $J$  = 4.3 Hz, 1H, H1- $\alpha$ ), 4.79 – 4.57 (m, 6H), 4.54 – 4.45 (m, 6H), 4.38 (dd,  $J$  = 10.9, 5.0 Hz, 2H), 4.10 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 2H), 4.04 – 3.99 (m, 1H), 3.71 (dd,  $J$  = 10.8, 5.6 Hz, 2H), 3.64 (d,  $J$  = 4.3 Hz, 2H).



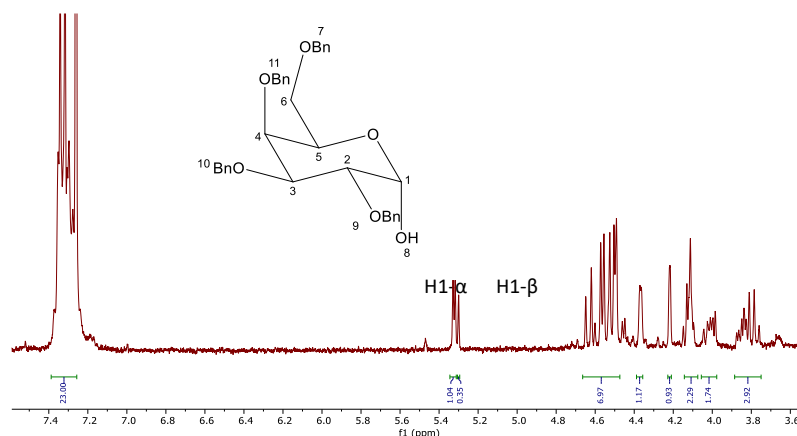
**Figura 4.19** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de 2,3,4,6-tetra-*O*-benzil-D-galactofuranose **71** (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )



**Figura 4.20** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de 2,3,4,6-tetra-*O*-benzil-D-galactofuranose **71** (101 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

### 2,3,4,6-tetra-*O*-benzil-D-galactopiranosil **63**

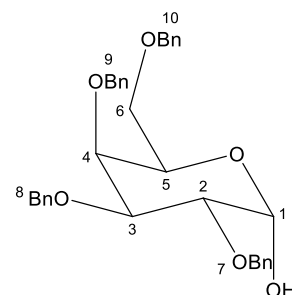
**$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  7.39 – 7.26 (m, 23H), 5.32 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 1H, H1- $\alpha$ ), 5.30 (s, 1H, H1- $\beta$ ), 4.66 – 4.47 (m, 7H), 4.37 (s, 1H), 4.22 (s, 1H), 4.12 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 4.06 – 3.98 (m, 2H), 3.89 – 3.75 (m, 3H).



**Figura 4.21** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-galactopiranosil **63** (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

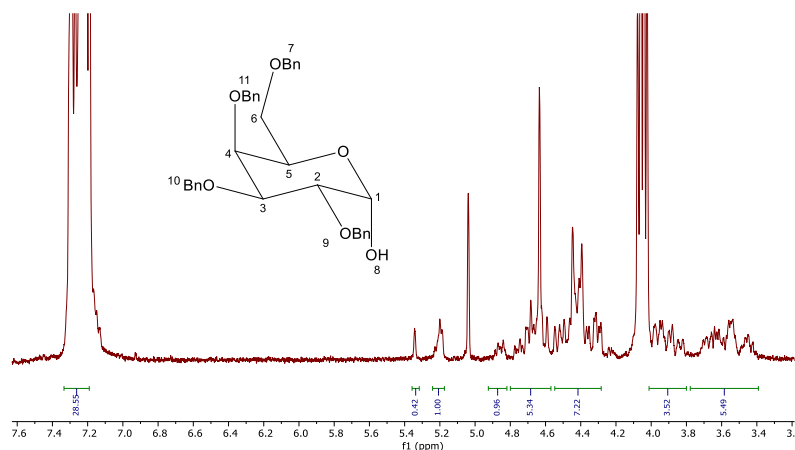
#### 4.3.7. Síntese de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil **63**

Uma solução de penta-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil (150 mg; 0,237 mmol) em ácido acético (1,8 mL) ficou em agitação à temperatura ambiente durante 5 minutos. De seguida, foram adicionados 0,7 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M ao meio reacional e a temperatura foi aumentada para os  $70^\circ\text{C}$  onde permaneceu em agitação. A evolução da reação foi acompanhada por TLC (hex/AcOEt; 8/2) onde se verificou o desaparecimento do material de partida ao fim de 3h. A solução foi arrefecida e adicionou-se gota-a-gota uma solução de NaOH 1M até se verificar pH=4. O ácido acético foi removido no evaporador rotativo e o crude foi extraído com AcOEt (3 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  e foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrada e o solvente foi removido no evaporador. O composto foi isolado e purificado em coluna de cromatografia com sílica *flash* hex/AcOEt (7/3) e caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN (80 mg, 62%).



$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 3430 (O-H); 3030 (C-H Ar); 2921 (C-H alifático); 1093 (C-O).

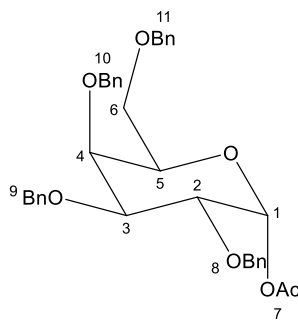
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,33 – 7,19 (m, 29H), 5,20 (s, 1H), 4,85 (d,  $J$  = 11,5 Hz, 1H), 4,80 – 4,57 (m, 5H), 4,55 – 4,28 (m, 7H), 4,01 – 3,80 (m, 4H), 3,78 – 3,39 (m, 5H), 2,03 (d,  $J$  = 1,9 Hz, 2H).



**Figura 4.22** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **63** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

#### 4.3.8. Síntese de 1-acetil-2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil **64**

Num balão de 25 mL, foram dissolvidos 80 mg de 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil **63** (0,147 mmol) em 2 mL de DCM previamente seco. A esta solução foram adicionados 0,035 mL de piridina (0,443 mmol), 0,042 mL de anidrido acético (0,443 mmol) e 4 mg de DMAP (0,03 mmol). A mistura reacional ficou em agitação à temperatura ambiente e a evolução da reação foi acompanhada por TLC (hexano/AcOEt, 8/2, v/v). Ao fim de 4.30h esta foi terminada com a adição de 10 mL de uma solução aquosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . O composto foi extraído com DCM (3 x 20 mL), as fases orgânicas foram secadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentradas no evaporador rotativo. O resíduo foi purificado em coluna de cromatografia com sílica *flash* utilizando o mesmo eluente da monitorização da reação. O composto foi caracterizado por  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN onde se verificou a formação das formas de furanose **72** e piranose **64** (Gal $f$ /Gal $p$ , 69:31); (22 mg, 25%).



$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 2913, 2868 (C-H alifático); 1746 (C=O) 1097 (C-O).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.48 – 7.03 (m, 49H), 6.38 (d,  $J$  = 3.8 Hz, 0,38H), 6.25 (s, 1H), 6.23 (d,  $J$  = 4.3 Hz, 0,47H), 5.58 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 0,29H), 4.90 (dd,  $J$  = 11.4, 5.5 Hz, 1H), 4.78 (dd,  $J$  = 11.6, 7.9 Hz, 1H), 4.73 – 4.63 (m, 4H), 4.58 (t,  $J$  = 10.1 Hz, 2H), 4.55 – 4.48 (m, 3H), 4.48 – 4.30 (m, 9H), 4.29 – 4.21 (m, 3H), 4.12 (dt,  $J$  = 10.9, 4.2 Hz, 1H), 4.04 – 3.95 (m, 4H), 3.96 – 3.88 (m, 1H), 3.74 (q,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 3.69 – 3.45 (m, 6H).

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.09 (CO), 138.46-137.52 (Cq Ph), 128.66-127.51 (CH-Ar), 100.58 (C1 $p$ - $\beta$ ), 94.41(C1 $f$ - $\beta$ ), 93.86 (C1 $p$ - $\alpha$ ), 90.90(C1 $f$ - $\alpha$ ), 87.29, 84.19, 83.79, 83.19, 81.49,

79.71, 78.76, 78.27, 77.73, 76.66, 75.50, 75.43, 75.03, 74.81, 74.64, 74.18, 73.69-71.95 (CH<sub>2</sub>-Ph), 70.73, 70.40, 68.51, 68.05, 21.41, 21.32.

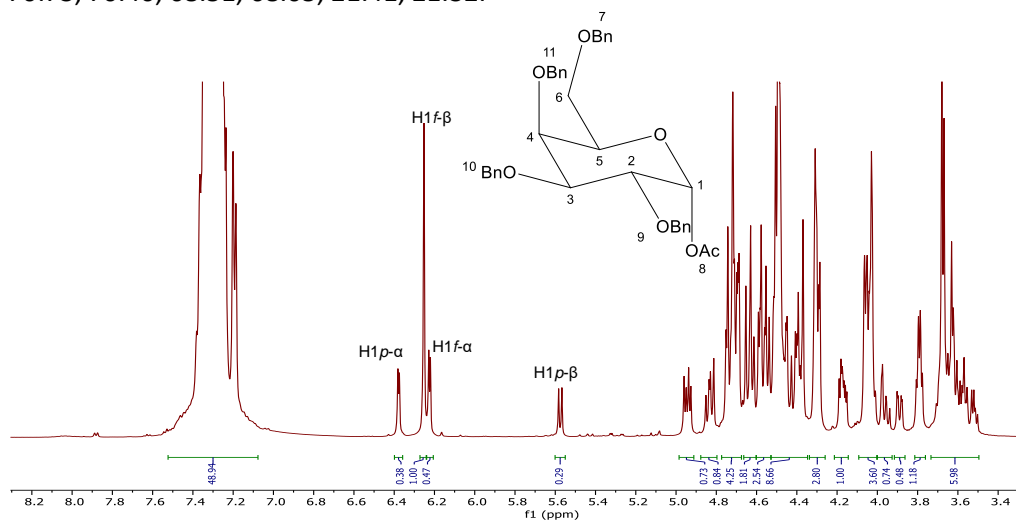
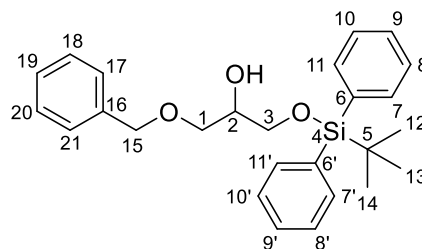


Figura 4.23 - Espectro de <sup>1</sup>H RMN do produto da reação de acetilação (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>)

## 4.4. Reações de acoplamento

### 4.4.1. Síntese de 1-O-benzil-3-O-(tert-butildifenilsilil)glicerol 24

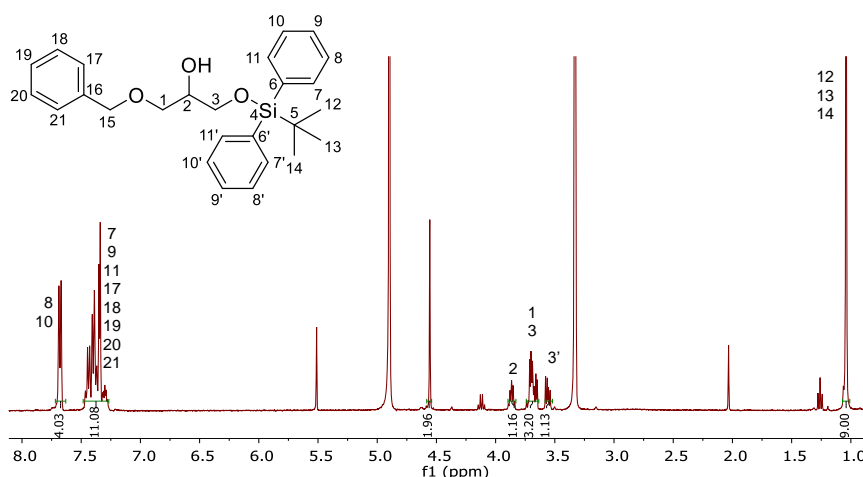
Num balão de 25 mL de duas tubuladuras foram dissolvidos 340 mg de 3-(benziloxi)propano-1,2-diol trietilamina (1,87 mmol) em 5 mL de THF e a solução foi arrefecida em banho de gelo e água. A esta solução, foram adicionados 0,78 mL de NEt<sub>3</sub> (5,6 mmol), 23 mg de 4-DMAP (0,19 mmol) e 0,63 mL de TBDPSCI (2,43 mmol). A mistura reacional ficou em agitação à temperatura ambiente durante 2.30h. Após se verificar a evolução da reação por TLC (4/6, hex/AcOEt), esta foi terminada com a adição de 10 mL de uma solução aquosa de NH<sub>4</sub>Cl e o produto foi extraído com AcOEt (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentradas no evaporador rotativo. O crude foi purificado por coluna de cromatografia com sílica *flash* usando como eluente uma mistura de hex/AcOEt (8/2) e o produto obtido (405 mg, 0,962 mmol), foi caracterizado por <sup>1</sup>H RMN.



**v<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>):** 3466 (O-H); 3065, 3043 (C-H Ar); 2932, 2857 (C-H alifático); 1111 (C-O).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>)** δ 7,68 (dt, *J* = 6,6, 1,4 Hz, 4H), 7,48 – 7,27 (m, 10H), 4,56 (s, 2H, H15), 3,87 (p, *J* = 5,6 Hz, 1H, H2), 3,74 – 3,64 (m, 3H, H1, H3), 3,56 (dd, *J* = 9,8, 5,7 Hz, 1H, H3'), 1,04 (s, 9H, H12/H13/H14)

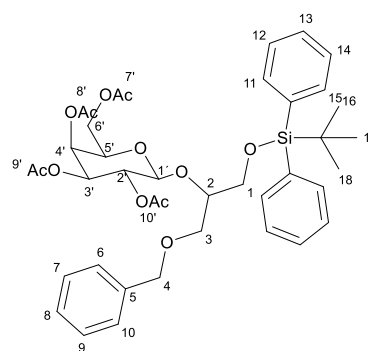




**Figura 4.24** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **24** (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

#### 4.4.2. Síntese de [1-(*tert*-butil-difenilsililoxi-metil)-2-(*O*-benzil)-etil] (tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil) **66**

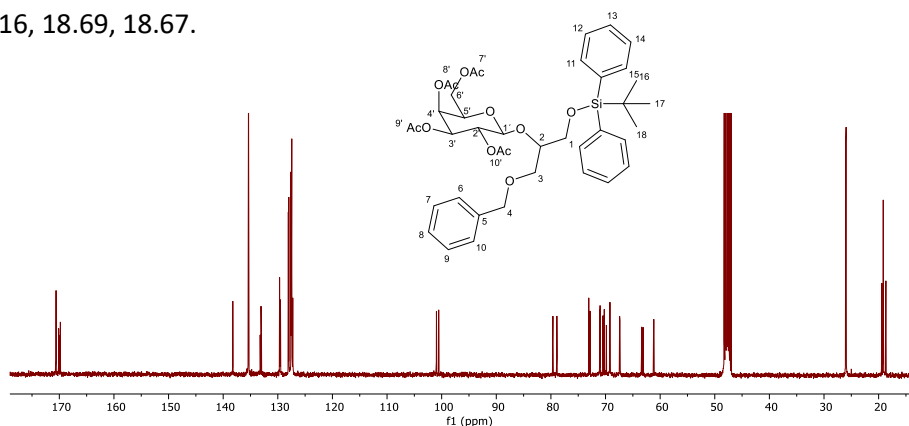
A um balão de 25 mL de fundo redondo de duas tubuladuras, com *sieves* previamente ativadas, foram adicionados, 100 mg de composto **24** (0,237 mmol), 131 mg de  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  (0,47 mmol) e 30 mg de  $\text{I}_2$  (0,12 mmol) dissolvidos em 8 mL de DCM. A mistura reacional foi protegida da luz e, sob azoto, ficou em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 30 min. De seguida, uma solução de 0,195 mg de acetobromogalactose (0,475 mmol) em 3 mL de DCM foi adicionada gota a gota durante 5 minutos. A evolução da reação foi acompanhada por TLC (6/4, hexano/AcOEt) e esta foi terminada ao fim de 24h. A fase orgânica foi extraída com diclorometano e concentrada no evaporador rotativo. O crude foi caracterizado por  $^1\text{H}$  RMN e purificado em coluna de cromatografia com sílica *flash* utilizando o mesmo eluente das placas TLC. O composto **66** isolado (100 mg, 0,133 mmol) foi caracterizado por  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT-135, COSY, HSQC/HMQC, HMBC, NOESY RMN.



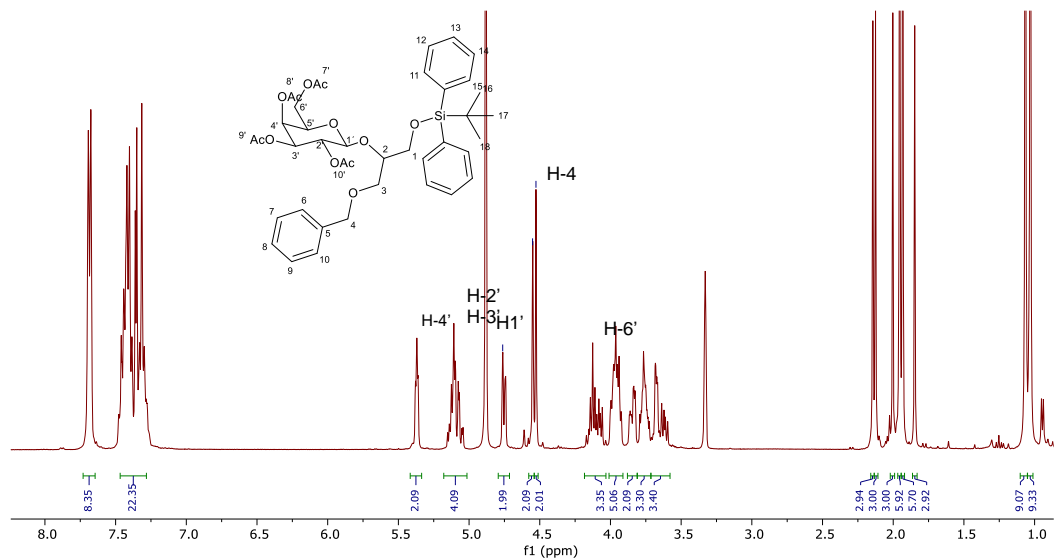
$\nu_{\text{max}}$  (cm $^{-1}$ ): 2935 (C-H Ar); 2859 (C-H alifático); 1746 (C=O); 1218 (C-O).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  7,73 – 7,64 (m, 8H), 7,47 – 7,28 (m, 22H), 5,37 (t,  $J$  = 3,9 Hz, 2H, H4), 5,09 (tdd,  $J$  = 13,6, 10,4, 4,6 Hz, 4H, H2, H3), 4,76 (d,  $J$  = 7,8 Hz; 2H, H1), 4,55 (s, 2H, H4'), 4,53 (s, 2H), 4,18 – 4,03 (m, 3H, H6), 4,01 – 3,91 (m, 5H, H5, H6), 3,84 (ddd,  $J$  = 10,6, 4,8, 2,1 Hz, 2H), 3,76 (tdd,  $J$  = 10,1, 6,5, 3,5 Hz, 3H), 3,71 – 3,58 (m, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,95 (s, 6H), 1,93 (s, 6H), 1,85 (s, 3H), 1,07 (s, 9H), 1,03 (s, 9H)

**$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, MeOD- $d_4$ )**  $\delta$  170.63, 170.60, 170.12, 170.10, 169.99, 169.81, 138.24, 135.39, 135.36, 133.23, 133.08, 133.00, 129.67, 129.57, 129.51, 128.07, 127.98, 127.58, 127.50, 127.48, 127.45, 127.35, 127.26, 100.96 (C1a- $\beta$ ), 100.54 (C1b- $\beta$ ), 79.63, 78.91, 73.07, 72.84, 71.08, 71.00, 70.47, 70.23, 69.85, 69.23, 69.19, 69.15, 67.42, 67.35, 63.38, 63.11, 61.19, 61.13, 48.27, 48.06, 47.85, 47.64, 47.42, 47.21, 46.99, 26.02, 25.95, 25.00, 19.46, 19.43, 19.26, 19.19, 19.16, 18.69, 18.67.



**Figura 4.25** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **66** (101 MHz, MeOD- $d_4$ )



**Figura 4.26** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **66** (400 MHz, MeOD- $d_4$ )



## 5. Referências

1. Newman, D. J., Cragg, G. M. & Snader, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat. Prod. Rep.* **17**, 215–234 (2000).
2. Achan, J. *et al.* Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: Role in the treatment of malaria. *Malar. J.* **10**, 144 (2011).
3. Butler, M. S. The role of natural product chemistry in drug discovery. *J. Nat. Prod.* **67**, 2141–2153 (2004).
4. Guo, Z. The modification of natural products for medical use. *Acta Pharm. Sin. B* **7**, 119–136 (2017).
5. Newman, D. J. & Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* **79**, 629–661 (2016).
6. Calixto, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. *An. Acad. Bras. Cienc.* **91**, 1–7 (2019).
7. Cragg, G. M., Newman, D. J. & Snader, K. M. Natural products in drug discovery and development. *J. Nat. Prod.* **60**, 52–60 (1997).
8. Newman, D. J. & Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **83**, 770–803 (2020).
9. Cragg, G. M. & Newman, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1830**, 3670–3695 (2013).
10. Gerwick, W. H. & Moore, B. S. Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology. *Chem. Biol.* **19**, 85–98 (2012).
11. Faulkner, D. J. Marine natural products Red algae. *Nat. Prod. Rep.* **17**, 7–55 (2000).
12. Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H. G. & Prinsep, M. R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* **29**, 144–222 (2012).
13. Wallace, M. S. Ziconotide: A new nonopioid intrathecal analgesic for the treatment of chronic pain. *Expert Rev. Neurother.* **6**, 1423–1428 (2006).
14. Harvey, W. H. Some account of the marine botany of the Colony of Western Australia. *Some Acc. Mar. Bot. Colony West. Aust.* **22**, 525–566 (2016).
15. Cebrian, E., Linares, C., Marschal, C. & Garrabou, J. Biological pollution in the Mediterranean Sea: invasive versus introduced macrophytes. *Biol. Invasions* **14**, 32–38 (2012).
16. Pinteus, S. *et al.* Marine invasive macroalgae: Turning a real threat into a major opportunity - the biotechnological potential of *Sargassum muticum* and *Asparagopsis armata*. *Algal Res.* **34**, 217–234 (2018).
17. Genovese, G., Tedone, L., Hamann, M. T. & Morabito, M. The Mediterranean red alga *Asparagopsis*: A source of compounds against *Leishmania*. *Mar. Drugs* **7**, 361–366 (2009).

18. McConnell, O. & Fenical, W. Halogen chemistry of the red alga *Asparagopsis*. *Phytochemistry* **16**, 367–374 (1977).
19. Cheng-Sánchez, I. & Sarabia, F. Chemistry and Biology of Bioactive Glycolipids of Marine Origin. *Mar. Drugs* **16**, (2018).
20. Hölzl, G. & Dörmann, P. Structure and function of glycoacylglycerolipids in plants and bacteria. *Prog. Lipid Res.* **46**, 225–243 (2007).
21. Zhang, J., Li, C., Yu, G. & Guan, H. Total synthesis and structure-activity relationship of glycoacylglycerolipids from marine organisms. *Mar. Drugs* **12**, 3634–3659 (2014).
22. Al-Fadhli, A., Wahidulla, S. & D'Souza, L. Glycolipids from the red alga *Chondria armata* (Kütz.) Okamura. *Glycobiology* **16**, 902–915 (2006).
23. Murakami, C. *et al.* Effects of glycolipids from spinach on mammalian DNA polymerases. *Biochem. Pharmacol.* **65**, 259–267 (2003).
24. Loya, S. *et al.* The inhibition of the reverse transcriptase of HIV-1 by the natural sulfoglycolipids from cyanobacteria: Contribution of different moieties to their high potency. *J. Nat. Prod.* **61**, 891–895 (1998).
25. Bergé, J. P., Debiton, E., Dumay, J., Durand, P. & Barthomeuf, C. In vitro anti-inflammatory and anti-proliferative activity of sulfolipids from the red alga *Porphyridium cruentum*. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6227–6232 (2002).
26. Yang, Y. L. *et al.* Structural elucidation of phosphoglycolipids from strains of the bacterial thermophiles *Thermus* and *Meiothermus*. *J. Lipid Res.* **47**, 1823–1832 (2006).
27. Allen, T. M. Long-circulating (sterically stabilized) liposomes for targeted drug delivery. *Trends Pharmacol. Sci.* **15**, 215–220 (1994).
28. Toon, P., Brown, P. E. & Baddiley, J. The lipid-teichoic acid complex in the cytoplasmic membrane of *Streptococcus faecalis* N.C.I.B. 8191. *Biochem. J.* **127**, 399–409 (1972).
29. Swoboda, J. G., Campbell, J., Meredith, T. C. & Walker, S. Wall teichoic acid function, biosynthesis, and inhibition. *ChemBioChem* **11**, 35–45 (2010).
30. Giordano, A., Vella, F. M., Romano, I. & Gambacorta, A. Structural elucidation of a novel phosphoglycolipid isolated from six species of *Halomonas*. *J. Lipid Res.* **48**, 1825–1831 (2007).
31. Van De Vossenberg, J. L. C. M., Ubbink-Kok, T., Elferink, M. G. L., Driessen, A. J. M. & Konings, W. N. Ion permeability of the cytoplasmic membrane limits the maximum growth temperature of bacteria and archaea. *Mol. Microbiol.* **18**, 925–932 (1995).
32. Franzmann, P. D. & Tindall, B. J. A Chemotaxonomic Study of Members of the Family Halomonadaceae. *Syst. Appl. Microbiol.* **13**, 142–147 (1990).
33. Majerus, P. W. Inositol phosphate biochemistry. *Annu. Rev. Biochem.* **61**, 225–250 (1992).
34. Ryan, M. *et al.* Glycol on Inhibitors of Phosphatidylinositol-Specific Phospholipase C from *Bacillus cereus*. **2623**, 4366–4376 (1996).
35. Veerkamp, J. H. & Van Schaik, F. W. Biochemical changes in *Bifidobacterium bifidum* var. *Pennsylvanicus* after cell wall inhibition VII. Structure of the phosphogalactolipids.

- Biochim. Biophys. Acta - Lipids Lipid Metab.* **348**, 370–387 (1974).
36. Manzo, E. *et al.* Immunostimulatory Phosphatidylmonogalactosyldiacylglycerols (PGDG) from the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*: Inspiration for a novel synthetic toll-like receptor 4 agonist. *Mar. Drugs* **17**, (2019).
  37. Fischer, W. & Landgraf, H. R. Glycerophosphoryl phosphatidyl kojibiosyl diacylglycerol, a novel phosphoglucolipid from *Streptococcus faecalis*. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)/Lipids Lipid Metab.* **380**, 227–244 (1975).
  38. Matsudaso, K., Kasamafl, T., Ishizukall, I., Handa, S. & Taki, T. Structure of a Novel Phosphocholine-containing Glycoglycerolipid. 33123–33128 (1994).
  39. Matsuda, K., Li, J. L., Harasawa, R. & Yamamoto, N. Phosphocholine-containing glycoglycerolipids (GGPL-I and GGPL-III) are species-specific major immunodeterminants of mycoplasma fermentans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **233**, 644–649 (1997).
  40. Volanakis, J. E. & Kaplan, M. H. Specificity of C-Reactive Protein for Choline Phosphate Residues of Pneumococcal C-Polysaccharide. *Exp. Biol. Med.* **136**, 612–614 (1971).
  41. Timperley, C. M., Renard, P. Y. & Gomez, C. *Phosphoryl Compounds. Best Synthetic Methods: Organophosphorus (V) Chemistry* (Elsevier Ltd, 2014). doi:10.1016/B978-0-08-098212-0.00004-2.
  42. Duan, J. X. *et al.* Potent and highly selective hypoxia-activated achiral phosphoramidate mustards as anticancer drugs. *J. Med. Chem.* **51**, 2412–2420 (2008).
  43. Freel Meyers, C. L. & Borch, R. F. Activation mechanisms of nucleoside phosphoramidate prodrugs. *J. Med. Chem.* **43**, 4319–4327 (2000).
  44. Bálint, E., Tajti, Á., Tóth, N. & Keglevich, G. Continuous Flow Alcoholysis of Dialkyl H-Phosphonates with Aliphatic Alcohols. *Molecules* **23**, 1618 (2018).
  45. Bálint, E., Tripolszky, A. & Tajti, Á. 6. Synthesis of  $\alpha$ -aminophosphonates by the Kabachnik–Fields reaction and by the Pudovik reaction. in *Organophosphorus Chemistry* (ed. Keglevich, G.) 108–147 (De Gruyter, 2018). doi:10.1515/9783110535839-006.
  46. Bálint, E. *et al.* Synthesis and utilization of optically active  $\alpha$ -aminophosphonate derivatives by Kabachnik–Fields reaction. *Tetrahedron* **73**, 5659–5667 (2017).
  47. Frank, A. W. *Chemistry of plant phosphorus compounds. Chemistry of Plant Phosphorus Compounds* (2013). doi:10.1016/C2012-0-02199-0.
  48. Wenger, W. C. & Anderson, R. L. D-Galactose 6-phosphate: anomeric distribution and analysis of its synthesis from D-galactose and polyphosphoric acid. *Carbohydr. Res.* **88**, 267–276 (1981).
  49. Raymond, L. Galactose-6-Phosphate. 765–769 (1931).
  50. Galactose-, D. P. X. V. Foster, Overend, and Stacey : 219. Deoxy-sugars. Part X V . Galactose-3. 980–987 (1875).
  51. Bissett, D. L., Wenger, W. C. & Anderson, R. L. Lactose and D-galactose metabolism in *Staphylococcus aureus*. II. Isomerization of D-galactose 6-phosphate to D-tagatose 6-phosphate by a specific D-galactose-6-phosphate isomerase. *J. Biol. Chem.* **255**, 8740–

- 8744 (1980).
52. Bissett, D. L. & Anderson, R. L. Lactose and D galactose metabolism in group N streptococci: presence of enzymes for both the D galactose 1 phosphate and D tagatose 6 phosphate pathways. *J. Bacteriol.* **117**, 318–320 (1974).
  53. Sabesan, S. & Neira, S. Synthesis of glycosyl phosphates and azides. *Carbohydr. Res.* **223**, 169–185 (1992).
  54. Kosterlitz, H. W. Synthetic galactose-1-phosphoric acid. *Biochem. J.* **33**, 1087–1093 (1939).
  55. MacDonald, D. L. A New Route to Glycosyl Phosphates. *J. Org. Chem.* **27**, 1107–1109 (1962).
  56. Heidlas, J. E., Lees, W. J. & Whitesides, G. M. Practical Enzyme-Based Syntheses of Uridine 5'-Diphosphogalactose and Uridine 5'-Diphospho-N-acetylgalactosamine on a Gram Scale. *J. Org. Chem.* **57**, 152–157 (1992).
  57. Metten, K.-H. & Welzel, P. Synthesis of the repeating unit of the capsular antigen of *Neisseria meningitidis* serogroup H. *Tetrahedron* **46**, 5145–5154 (1990).
  58. Mannock, D. A., Lewis, R. N. A. H. & McElhaney, R. N. An improved procedure for the preparation of 1,2-di-O-acyl-3-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-sn-glycerols. *Chem. Phys. Lipids* **43**, 113–127 (1987).
  59. van Boeckel, C. A. A., Visser, G. M. & van Boom, J. H. Synthesis of phosphatidyl- $\beta$ -glucosyl glycerol containing a dioleoyl diglyceride moiety. *Tetrahedron* **41**, 4557–4565 (1985).
  60. Von Minden, H. M., Morr, M., Milkereit, G., Heinz, E. & Vill, V. Synthesis and mesogenic properties of glycosyl diacylglycerols. *Chem. Phys. Lipids* **114**, 55–80 (2002).
  61. Aly, M. R. E. S. & El Ashry, E. S. H. *Recent Advances Toward Robust N-Protecting Groups for Glucosamine as Required for Glycosylation Strategies. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* vol. 73 (Elsevier Inc., 2016).
  62. Sun, L., Wu, X., Xiong, D. C. & Ye, X. S. Stereoselective Koenigs–Knorr Glycosylation Catalyzed by Urea. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **55**, 8041–8044 (2016).
  63. Banoub, J., Boullanger, P. & Lafont, D. Synthesis of Oligosaccharides of 2-Amino-2-deoxy Sugars. *Chem. Rev.* **92**, 1167–1195 (1992).
  64. Schmidt, R. R., Behrendt, M. & Toepfer, A. Nitriles as Solvents in Glycosylation Reactions: Highly Selective  $\beta$ -Glycoside Synthesis 1. *Synlett* **1990**, 694–696 (1990).
  65. Wulff, G. & Rohle, G. Results and problems of O glycoside synthesis. *Angew. Chemie* **86**, 173–187 (1974).
  66. Kartha, K. P. R. Iodine, a novel catalyst in carbohydrate reactions I. -isopropylidination of carbohydrates. *Tetrahedron Lett.* **27**, 3415–3416 (1986).
  67. Woolley, P. & Eibl, H. Synthesis of enantiomerically pure phospholipids including phosphatidylserine and phosphatidylglycerol. *Chem. Phys. Lipids* **47**, 55–62 (1988).
  68. Saady, M., Valleix, A., Lebeau, L. & Mioskowski, C. First Synthesis of Fully Deprotected Diimidotriphosphoric Acid and Derivatives Designed for the Synthesis of “PNPNP”

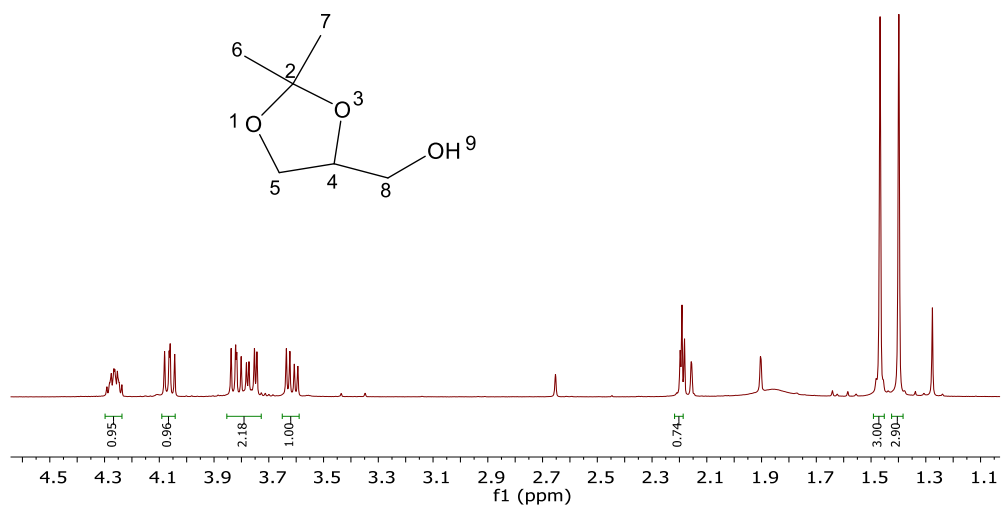
- Nucleotides and Dinucleotides. *J. Org. Chem.* **60**, 3685–3691 (1995).
69. Morgan, E. . Vogel's textbook of practical organic chemistry. 5th edn. *Endeavour* vol. 14 148 (1990).
  70. Doyle, L. M. *et al.* Stereoselective Epimerizations of Glycosyl Thiols. *Org. Lett.* **19**, 5802–5805 (2017).
  71. Leslie, R., Tseke, K., Vitkute, A., Benjamin, S. L. & Seetohul, L. N. Fluoropyridyl Sugars - Masked Imidate Glycosyl Donors that Display Reactivity, Selectivity, and Stability. *Synlett* **28**, 2131–2134 (2017).
  72. Wang, Z. Fischer-Helferich Glycosylation. *Compr. Org. Name React. Reagents* 1893–1895 (2010) doi:10.1002/9780470638859.conrr237.
  73. Galván, I. F. *et al.* Use of the Average Solvent Potential Approach in the Study of Solvent Effects. *Adv. Quantum Chem.* **59**, 59–97 (2010).
  74. Troche-Pesqueira, E., Cid, M. M. & Navarro-Vázquez, A. Disodium cromoglycate: Exploiting its properties as a NMR weak-aligning medium for small organic molecules. *Org. Biomol. Chem.* **12**, 1957–1965 (2014).
  75. Santra, S., Jonas, E., Bourgault, J. P., El-Baba, T. & Andreana, P. R. Kinetic products under thermal conditions: Rapid entry into  $\alpha/\beta$ -D-galactofuranosides using microwave irradiation and selective Lewis acids. *J. Carbohydr. Chem.* **30**, 27–40 (2011).
  76. Thomann, J. S. *et al.* Novel glycolipid TLR2 ligands of the type Pam 2Cys- $\alpha$ -Gal: Synthesis and biological properties. *Eur. J. Med. Chem.* **51**, 174–183 (2012).
  77. Tefsen, B., Ram, A. F., van Die, I. & Routier, F. H. Galactofuranose in eukaryotes: aspects of biosynthesis and functional impact. *Glycobiology* **22**, 456–469 (2012).
  78. Bordoni, A., Lima, C., Mariño, K., de Lederkremer, R. M. & Marino, C. Facile synthesis of methyl  $\alpha$ - and  $\beta$ -d-[6-3H]galactofuranosides from d-galacturonic acid. Substrates for the detection of galactofuranosidases. *Carbohydr. Res.* **343**, 1863–1869 (2008).
  79. Decoster, E., Lacombe, J.-M., Strebler, J.-L., Ferrari, B. & Pavia, A. A. Une Autre Approche A La Synthèse De Derives Benzyles Des Monosaccharides Reducteurs. Etude Des Equilibres Pyranose-Furanose Par R.M.N. Du Carbone-13. *J. Carbohydr. Chem.* **2**, 329–341 (1983).
  80. heyman, norman S. GLYCOSYLATED VALPROIC ACID ANALOGS AND USES THEREOF. (2013).
  81. Wen, P. *et al.* Synthesis of Glycosyl Chlorides and Bromides by Chelation Assisted Activation of Picolinic Esters under Mild Neutral Conditions. *Org. Lett.* **22**, 1495–1498 (2020).
  82. Chang, C. *et al.* Establishment of Guidelines for the Control of Glycosylation Reactions and Intermediates by Quantitative Assessment of Reactivity. *Angew. Chemie Int. Ed.* **58**, 16775–16779 (2019).
  83. Williams, D. B. G. & Lawton, M. Drying of organic solvents: Quantitative evaluation of the efficiency of several desiccants. *J. Org. Chem.* **75**, 8351–8354 (2010).
  84. Still, W. C., Kahn, M. & Mitra, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J. Org. Chem.* **43**, 2923–2925 (1978).



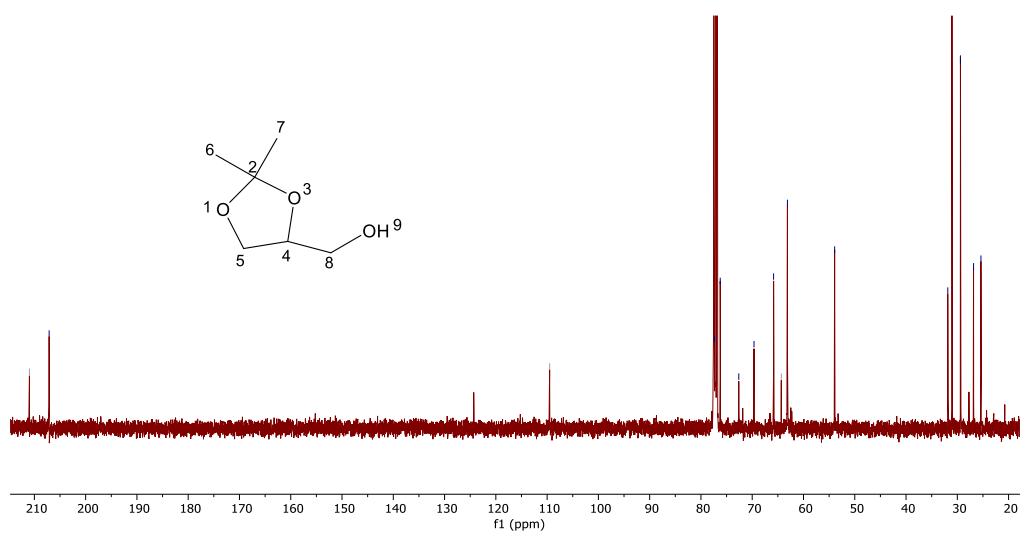


## 6. Anexos

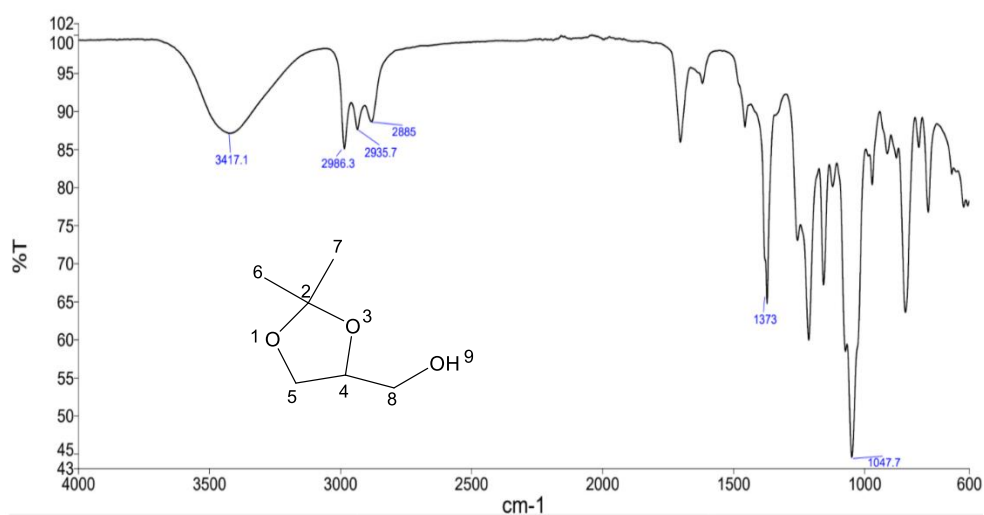
### 6.1 Apêndice 1 - (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metanol **44**



**Figura 6.1** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **44** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

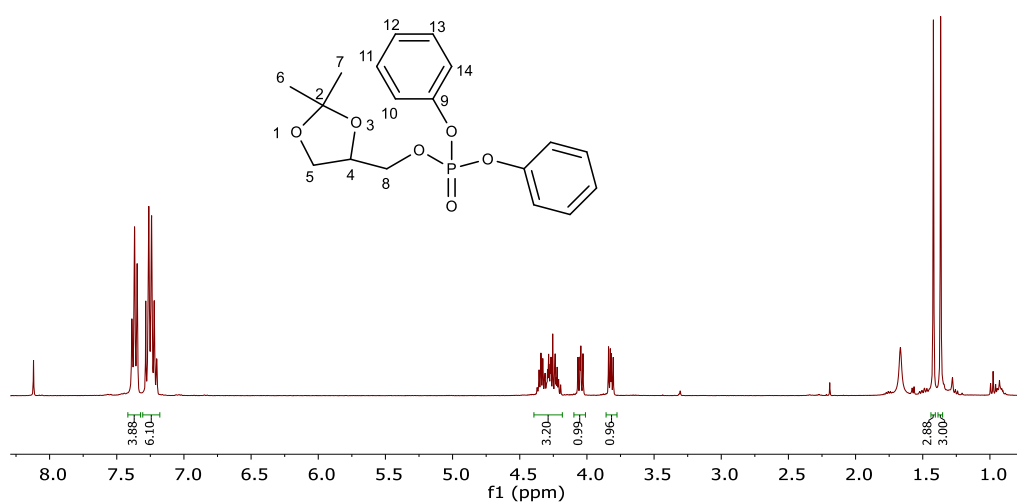


**Figura 6.2** - Espetro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **44** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

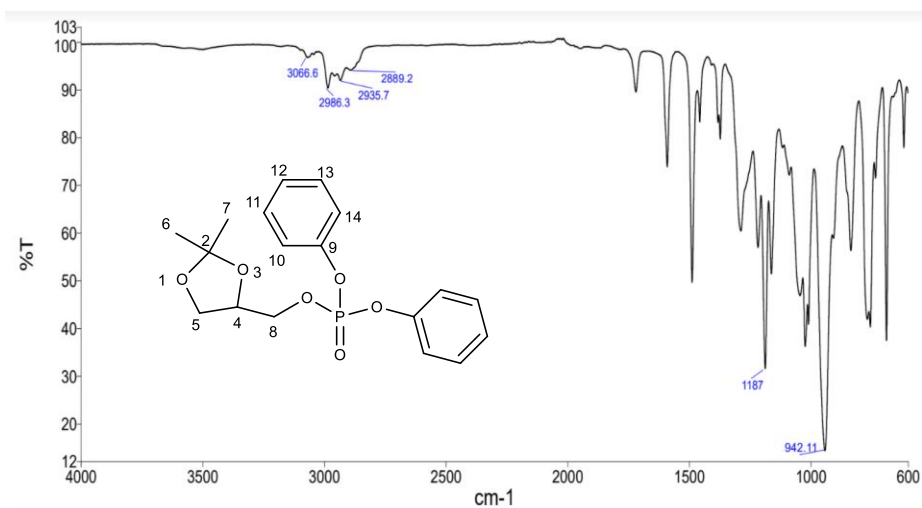


**Figura 6.3** - Espectro de IV do composto **44**

## 6.2 Apêndice 2 - (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil difenil fosfato **45**

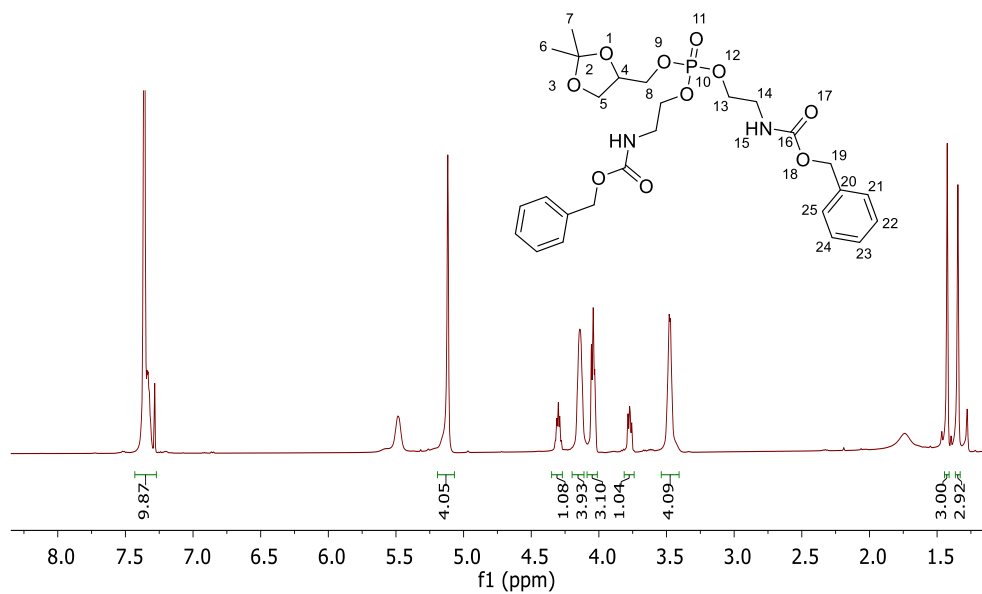


**Figura 6.4** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **45** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

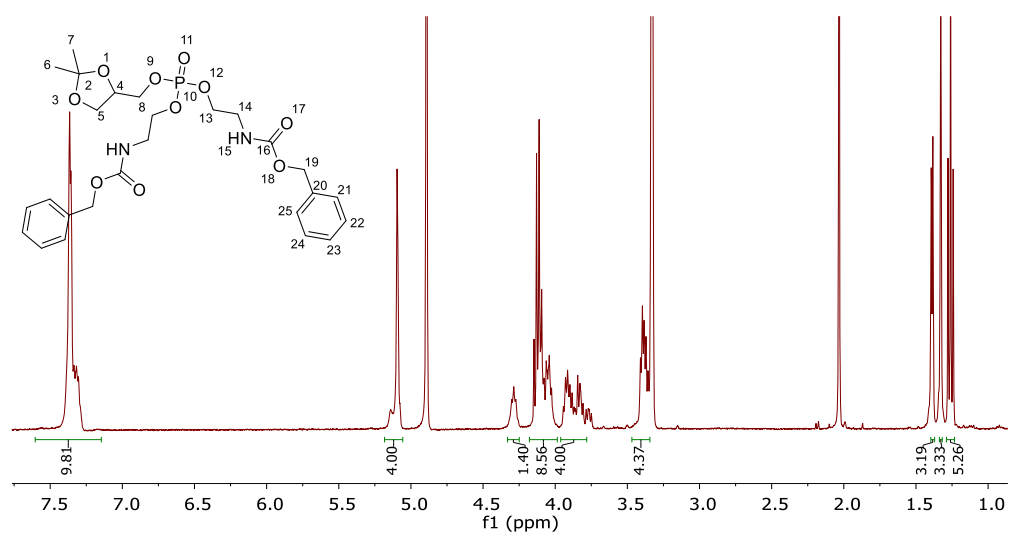


**Figura 6.5 - Espectro de IV do composto 45**

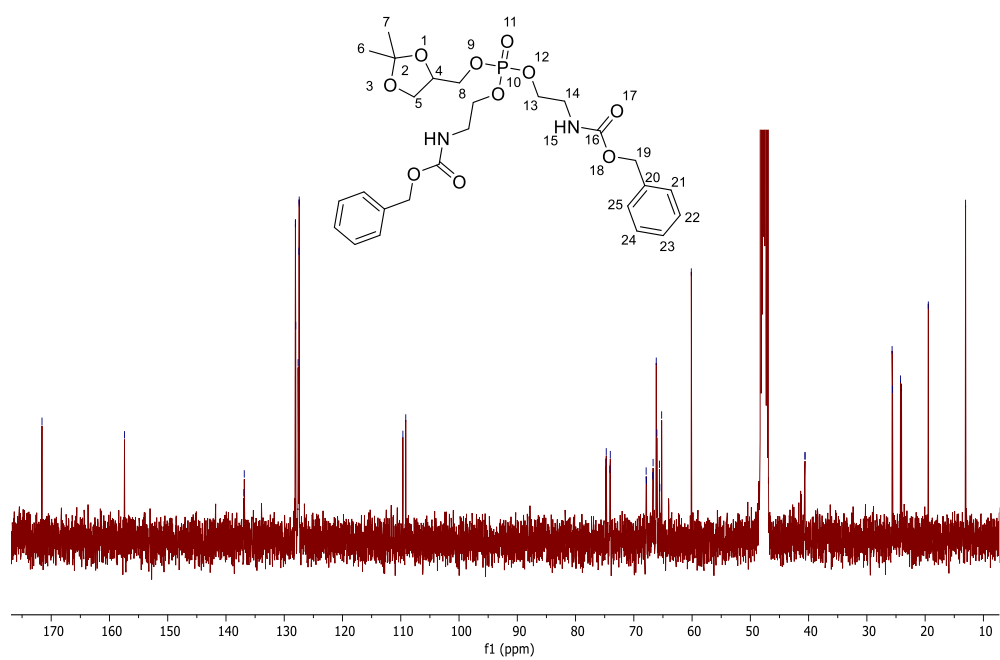
### 6.3 Apêndice 3 – Síntese de (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il)metil di(N-Z-Etanolamina) fosfato 47



**Figura 6.6 - Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto 47 segundo método A (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**

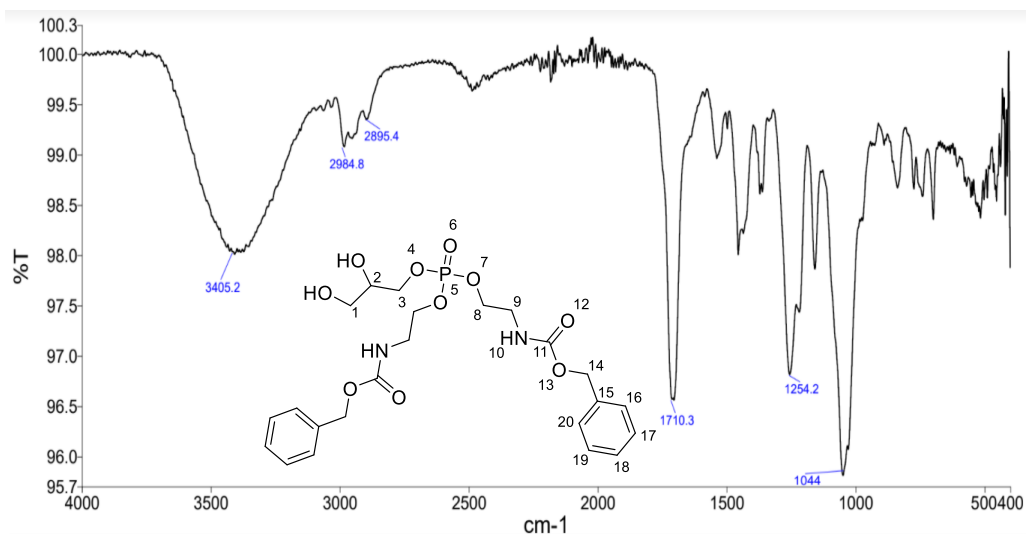
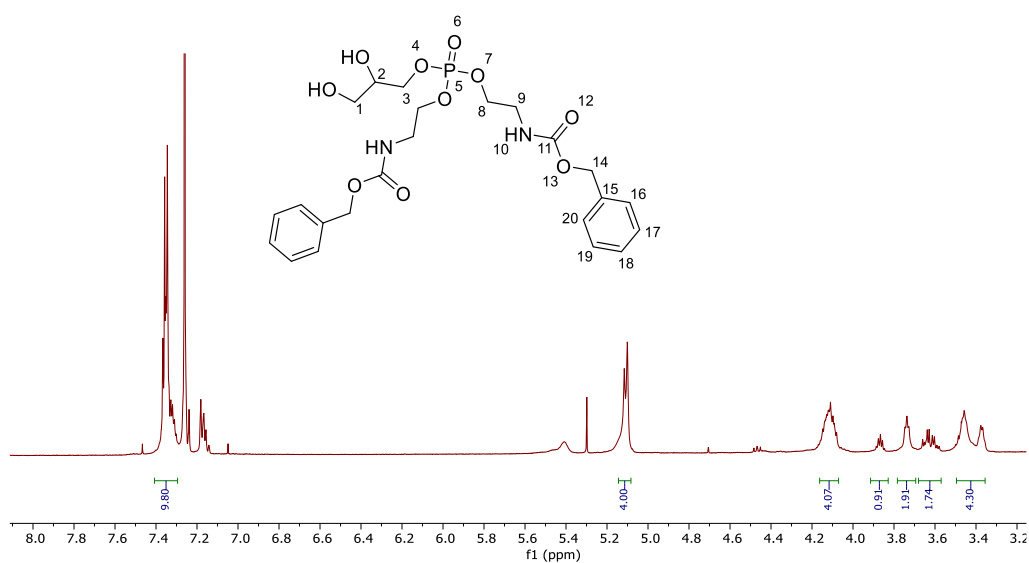


**Figura 6.7** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **47** segundo método B (400 MHz, MeOD- $d_4$ )

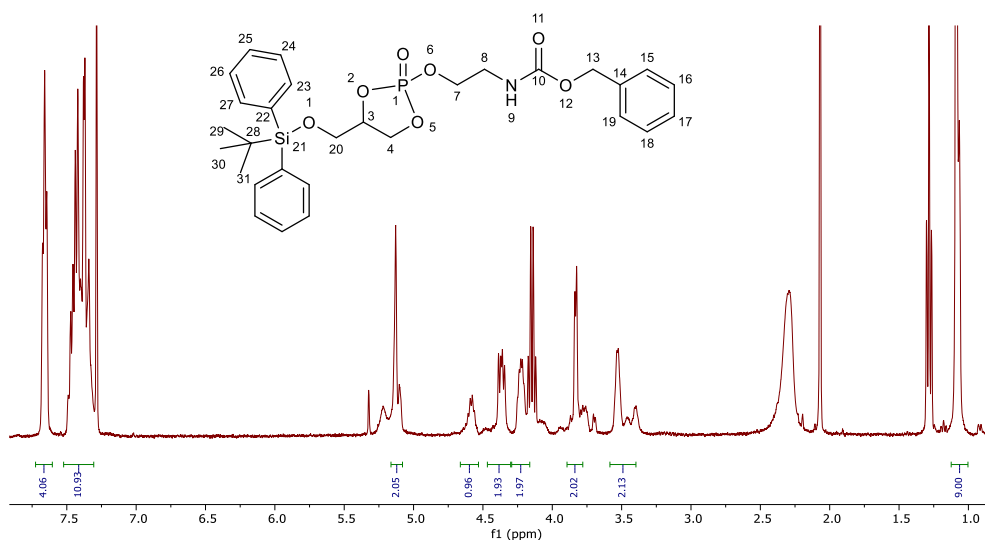


**Figura 6.8** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **47** (101 MHz, MeOD- $d_4$ )

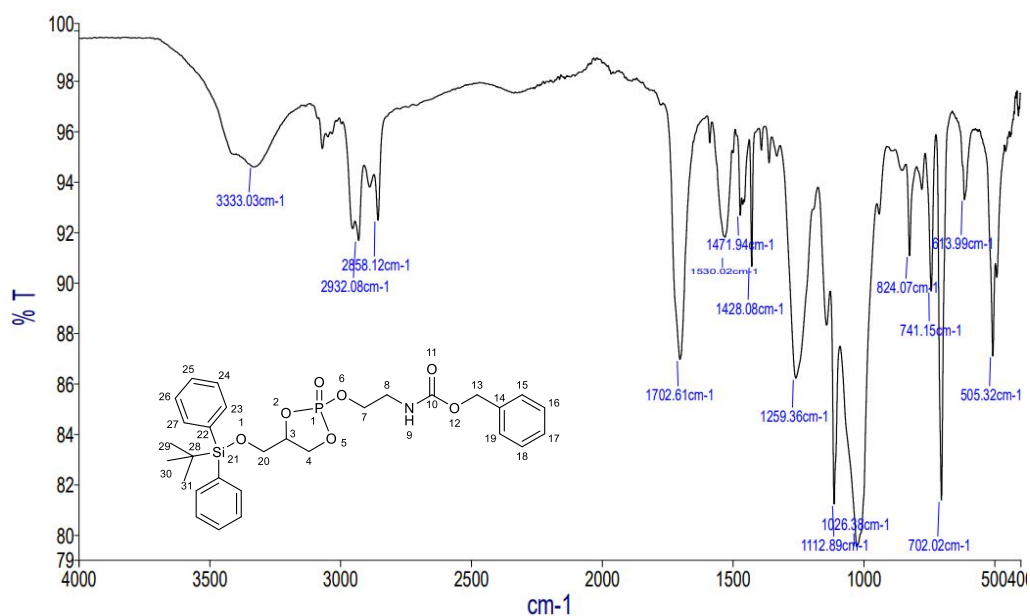
## 6.4 Apêndice 4 –3-((oxi(di-N-Z-etanolamina fosfato)) propano-1,2-diol 49



## 6.5 Apêndice 5 – 1-(N-Z-etanolamina) fosfato-(1,2,5-dioxafosfolano-3-il)20-((tert-butildifenil silil)oxi) 67

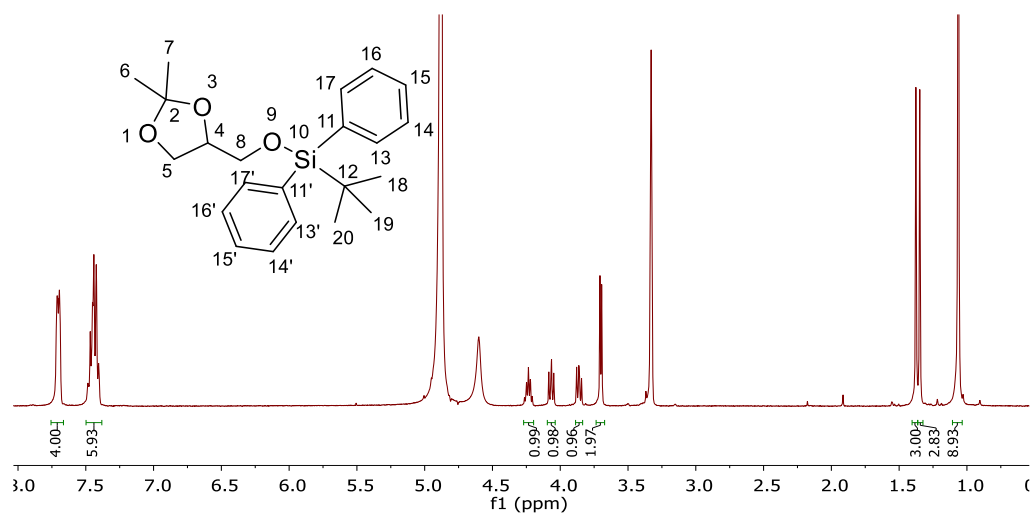


**Figura 6.11** - Espectro de  $^1\text{H}$  do composto 67 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

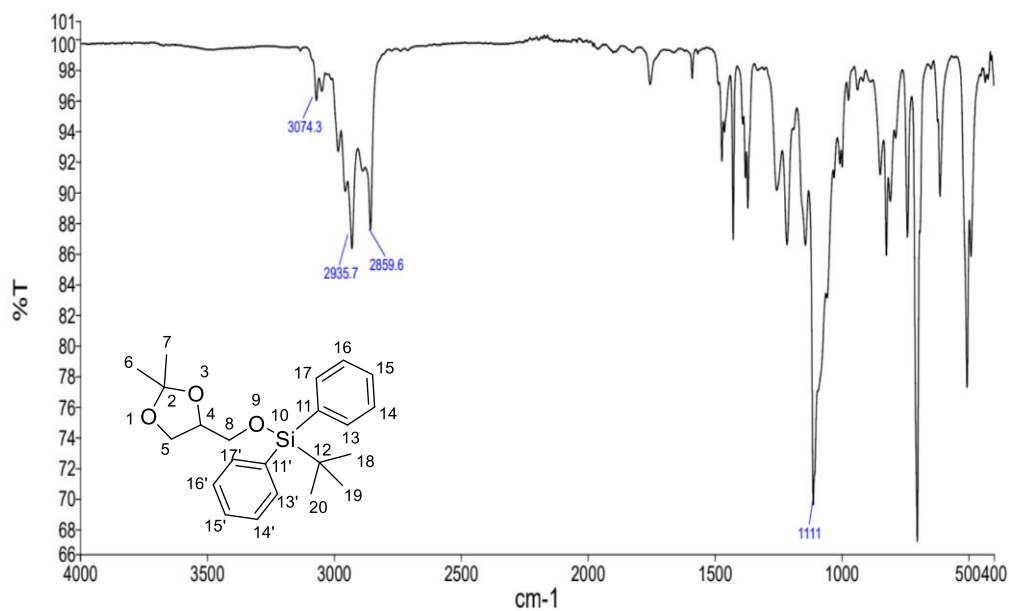


**Figura 6.12** - Espectro de IV do composto 67

## 6.6 Apêndice 6 – 4-((tert-butil difenilsilano) metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano 52



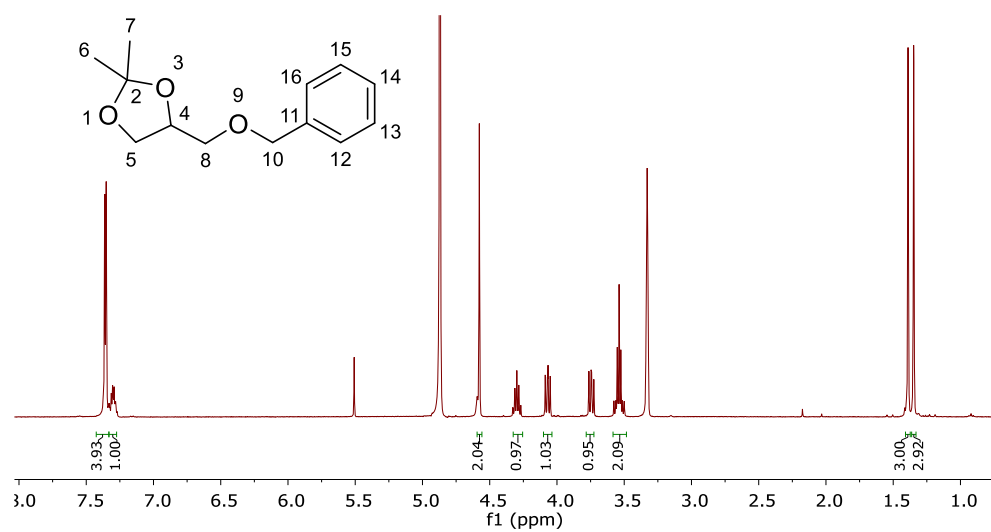
**Figura 6.13** - Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto **52** (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



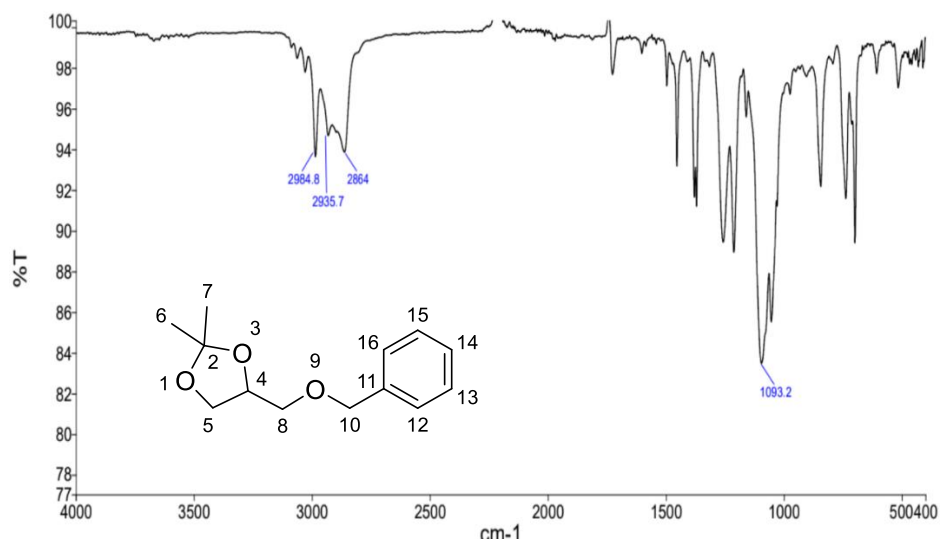
**Figura 6.14** - Espectro de IV do composto **52**



## 6.7 Apêndice 7 – 4-((benziloxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano 53

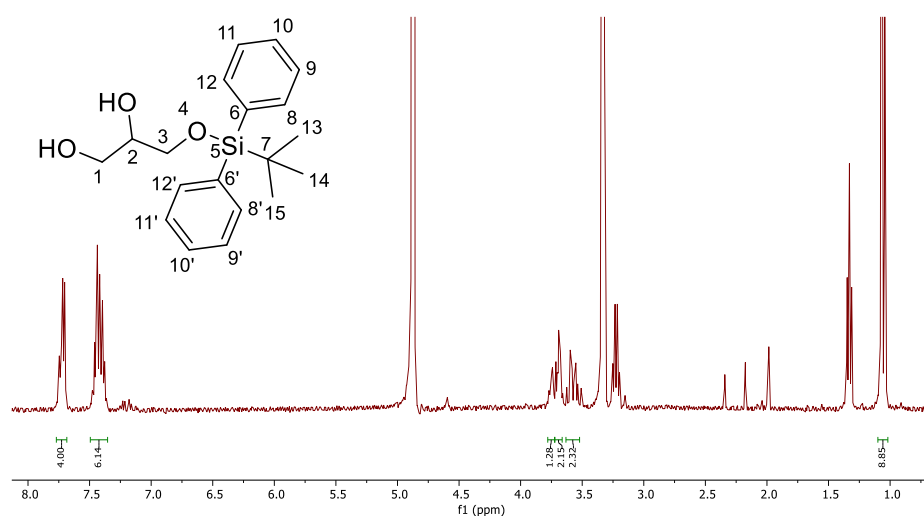


**Figura 6.15** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **53** (400 MHz,  $\text{MeOD-d}_4$ )

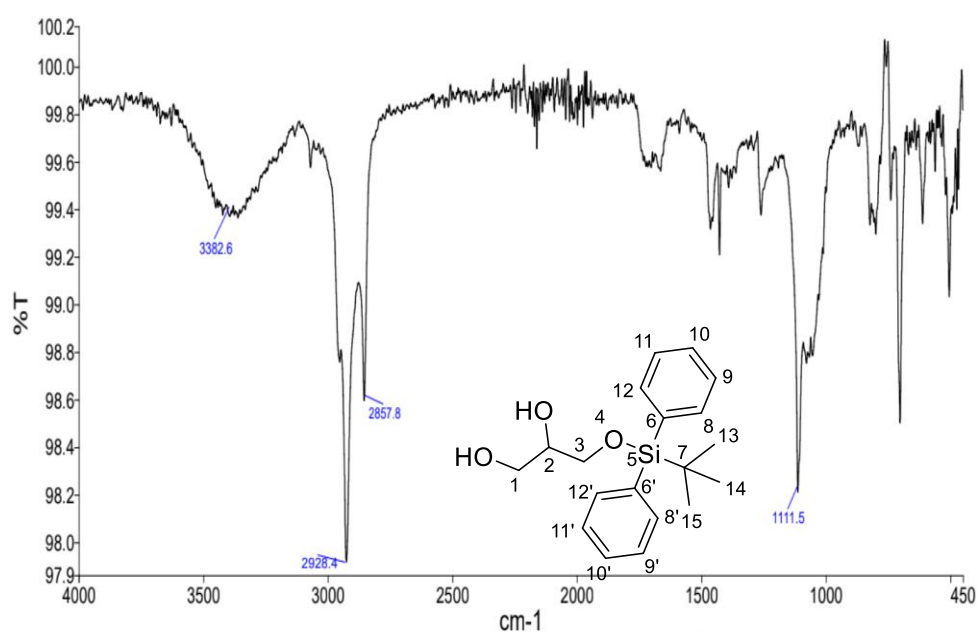


**Figura 6.16** - Espetro de IV do composto **53**

## 6.8 Apêndice 8 – 3-((tert-butildifenil isilil)oxi)propano1,2-diol **54**

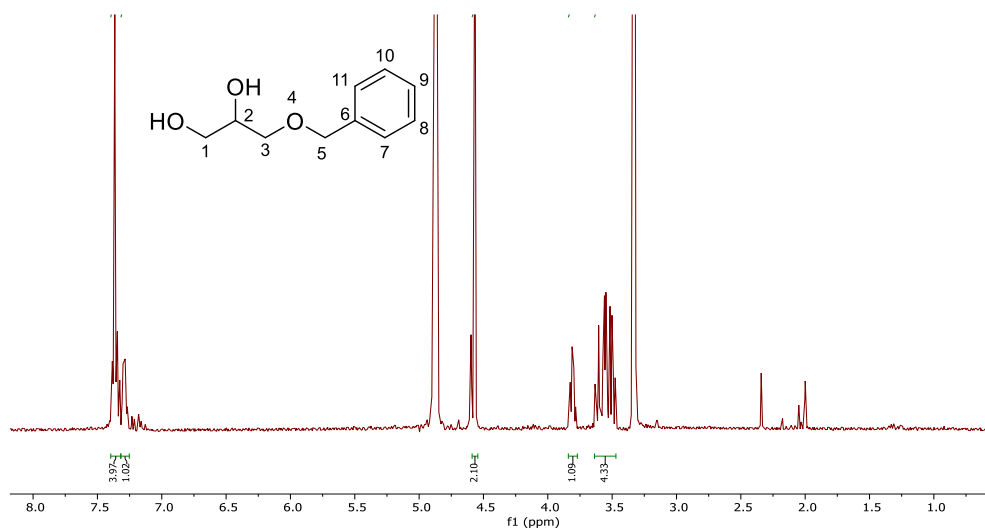


**Figura 6.17** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **54** (400 MHz,  $\text{MeOD-d}_4$ )

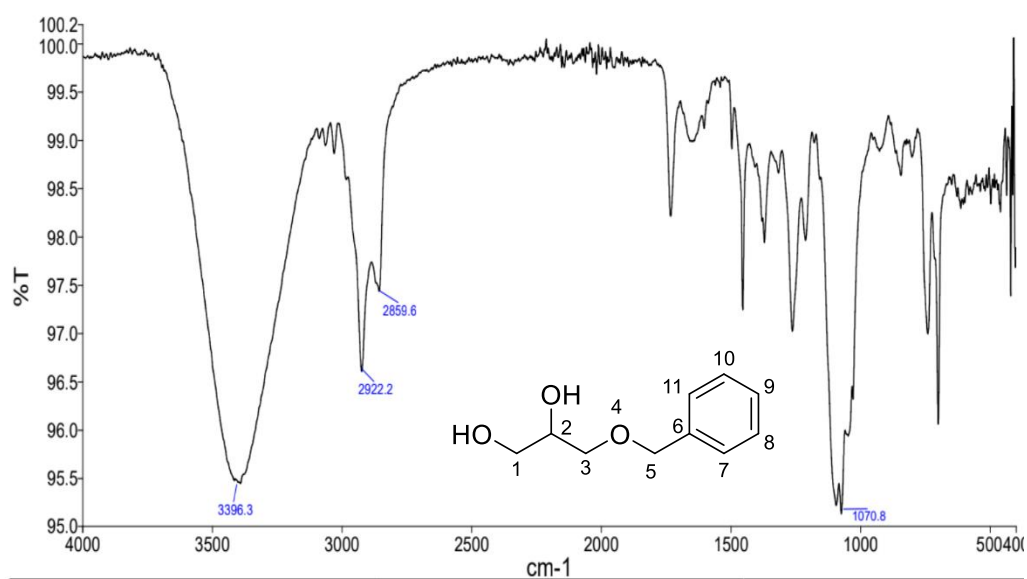


**Figura 6.18** - Espectro de IV do composto **54**

## 6.9 Apêndice 9 – 3-(benziloxi)propano-1,2-diol 55

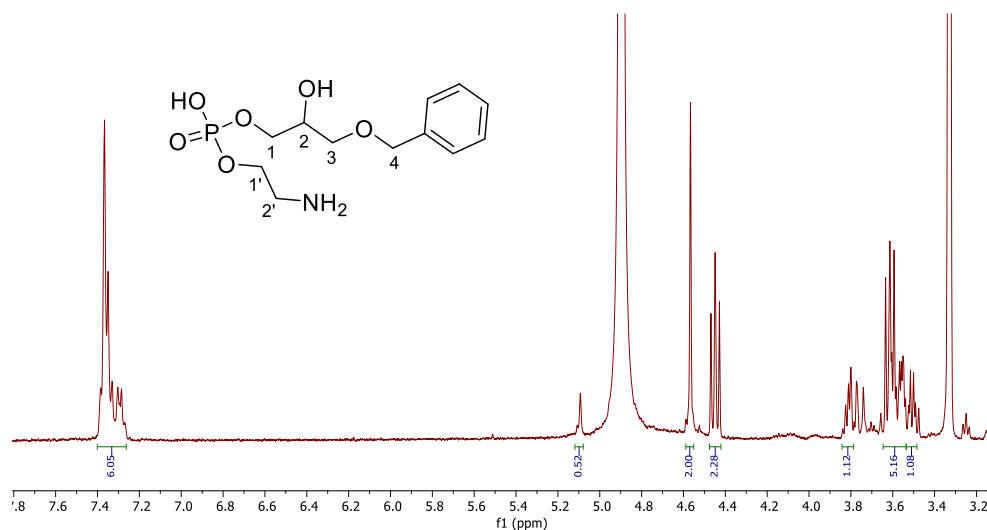


**Figura 6.19** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **55** (400 MHz,  $\text{MeOD-d}_4$ )

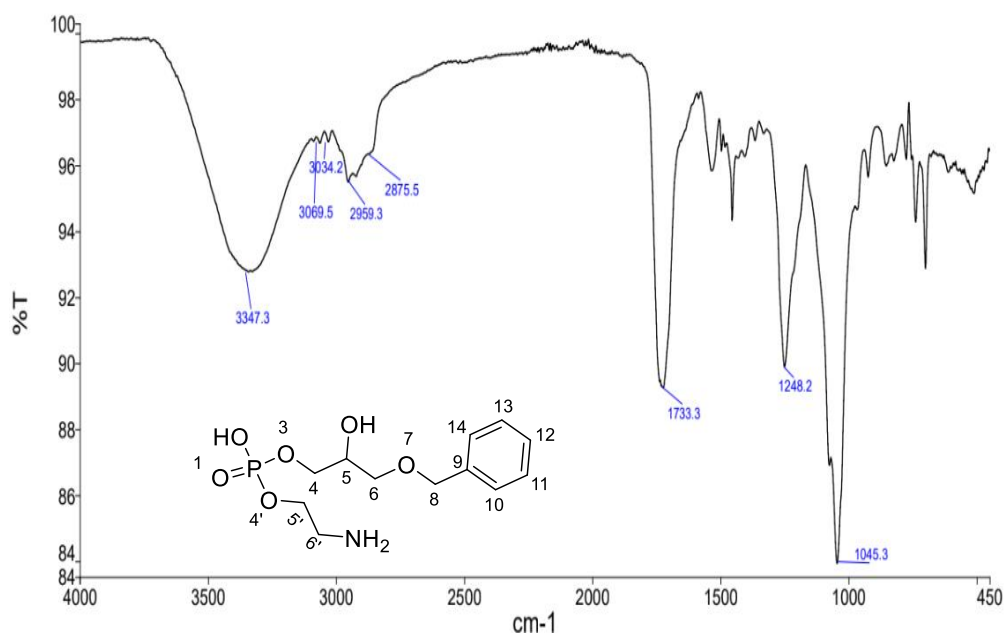


**Figura 6.20** - Espectro de IV do composto **55**

## 6.10 Apêndice 10 – 2-aminoetil (3-(benziloxi)-2-hidroxiopropil) fosfato 69

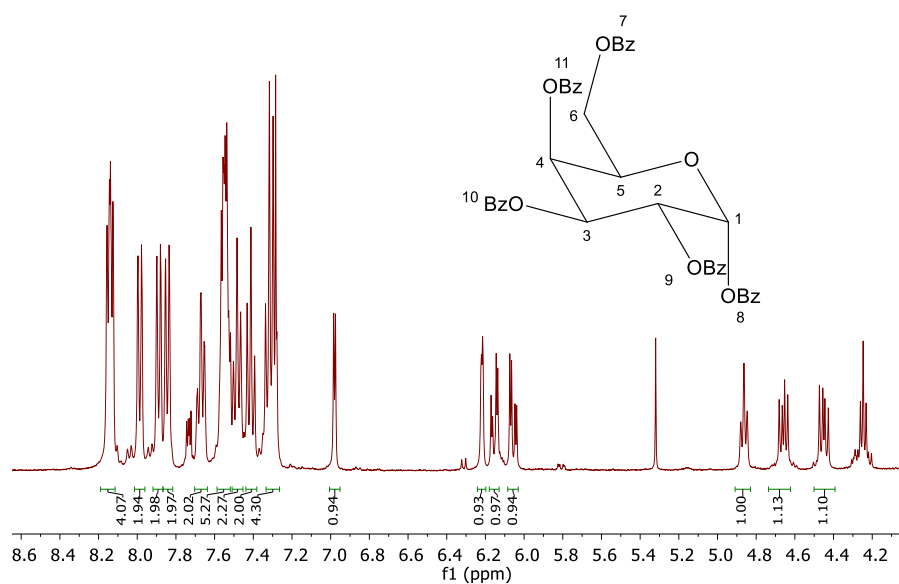


**Figura 6.21** - Espectro de <sup>1</sup>H RMN da estrutura proposta para o intermediário 69 (400 MHz; MeOD-d<sub>4</sub>)

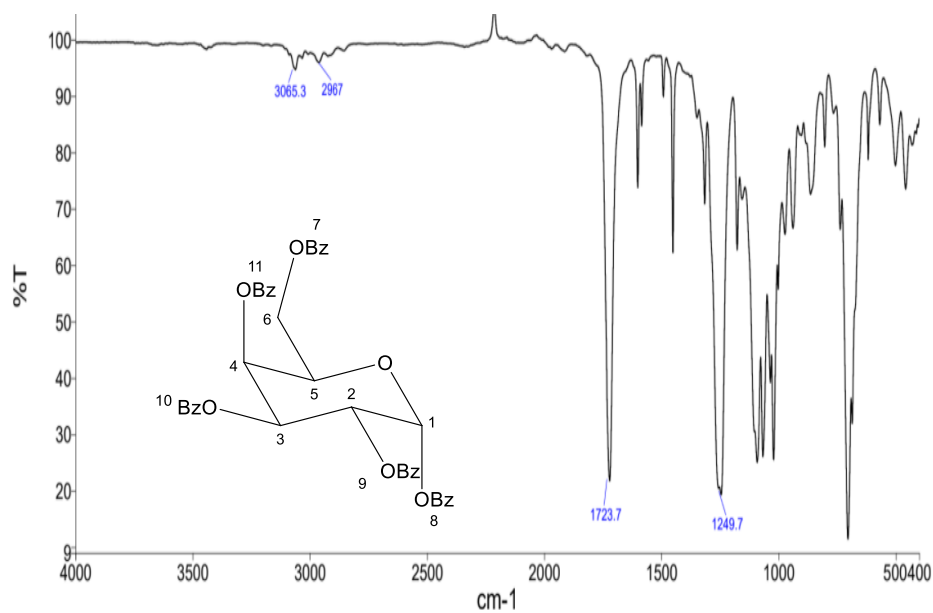


**Figura 6.22** - Espectro de IV da estrutura proposta para o intermediário 69

## 6.11 Apêndice 11 – 1,2,3,4,6-penta-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil 60

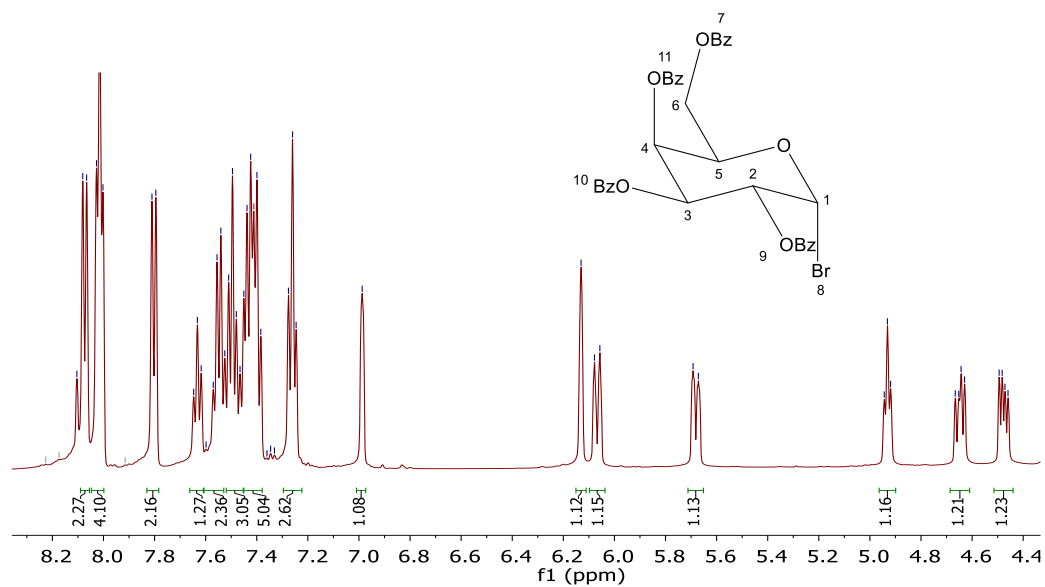


**Figura 6.23** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **60** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

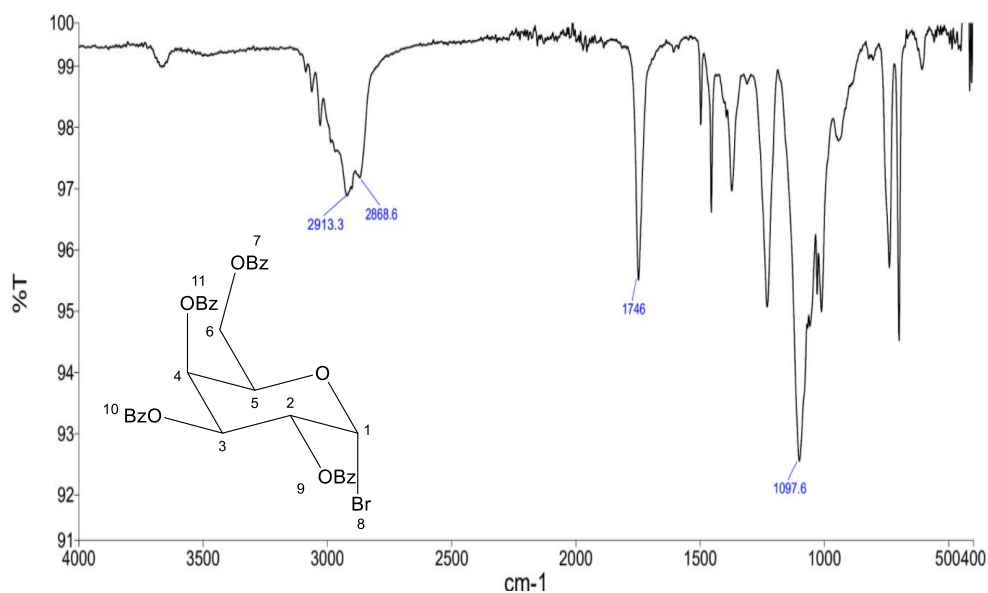


**Figura 6.24** - Espetro de IV do composto **60**

## 6.12 Apêndice 12 – Brometo de 2,3,4,6-tetra-O-benzoílo- $\alpha$ -D-galactopiranosil **58**

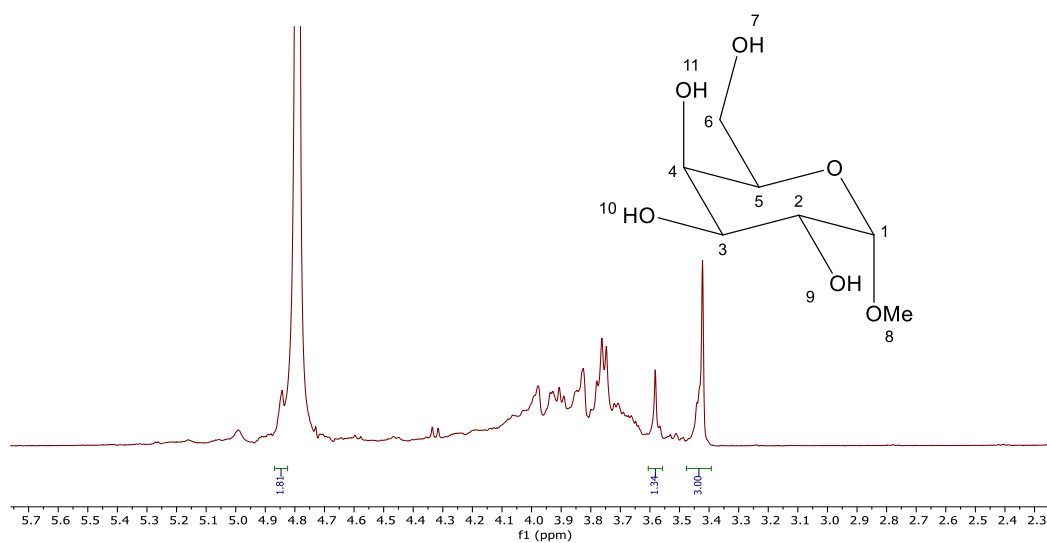


**Figura 6.25** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **58** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

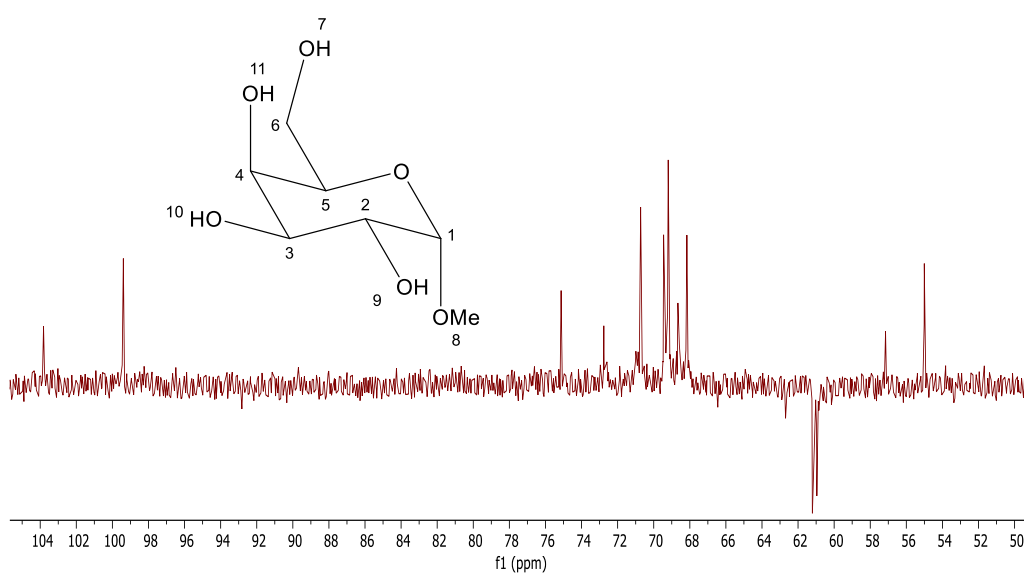


**Figura 6.26** - Espectro de IV do composto **58**

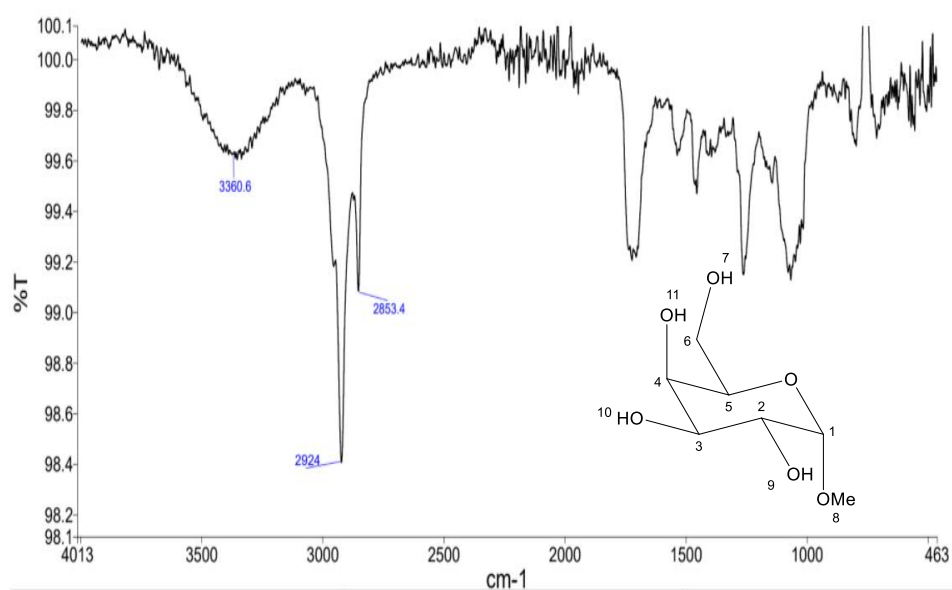
### 6.13 Apêndice 13 – Metil $\alpha$ -D-Galactopiranosil 61



**Figura 6.27** - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **61** (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )

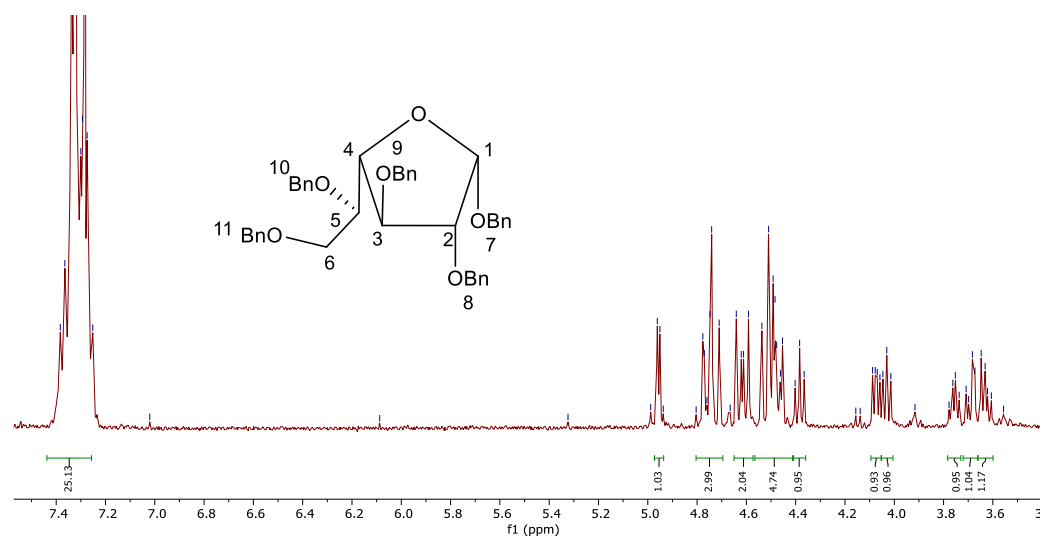


**Figura 6.28** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **61** (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )



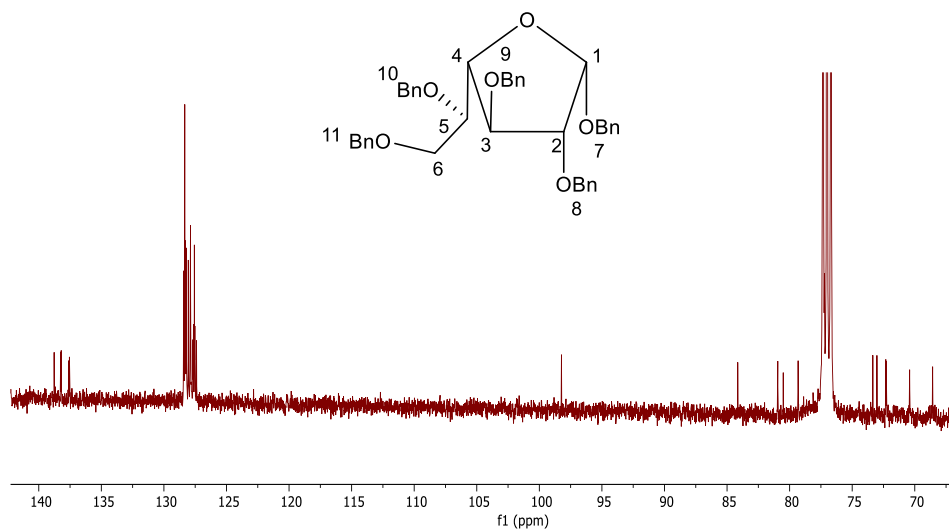
**Figura 6.29** - Espectro de IV do composto **61**

#### 6.14 Apêndice 14 – 1,2,3,4,6-penta-*O*-benzil-α-D-galactofuranose **70**

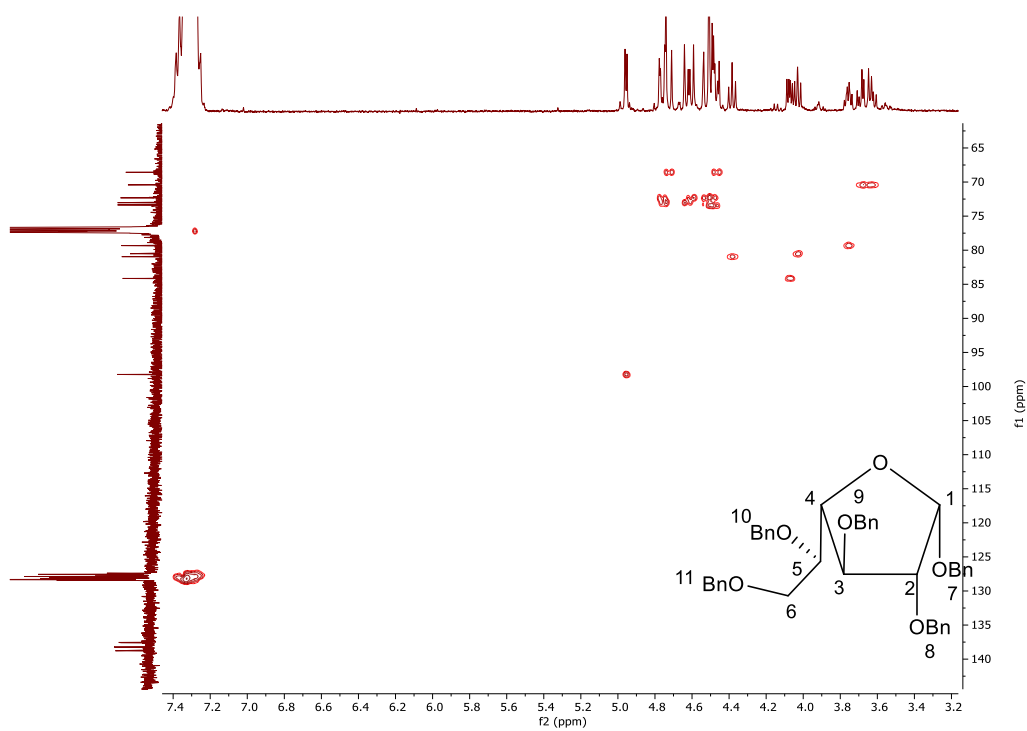


**Figura 6.30** - Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto **70** (400 Hz; CDCl<sub>3</sub>)

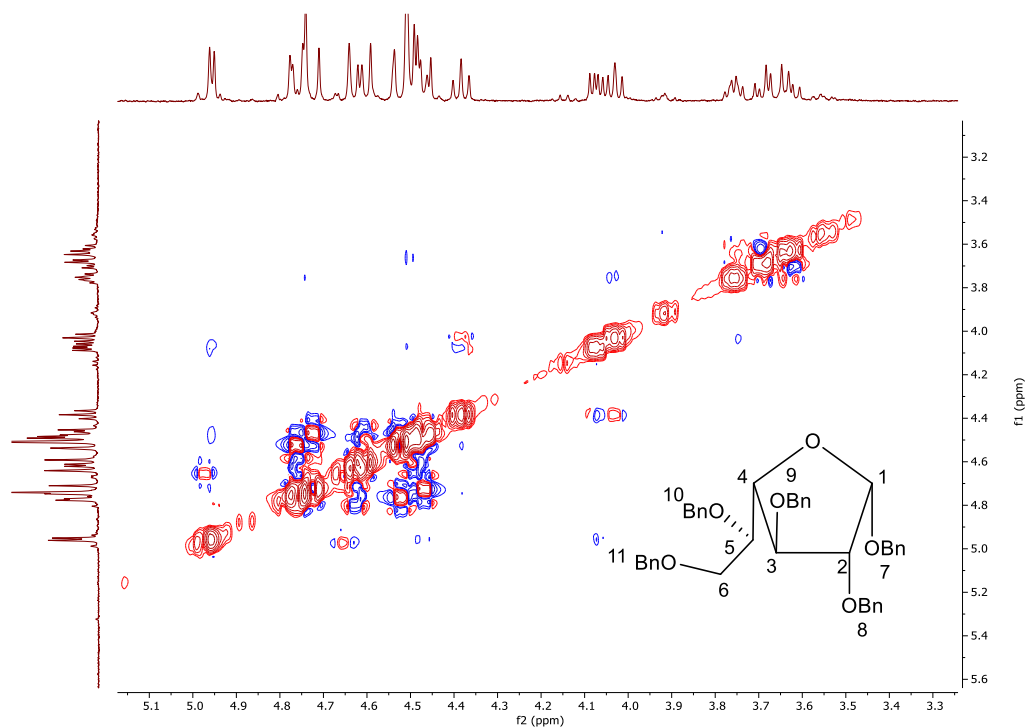




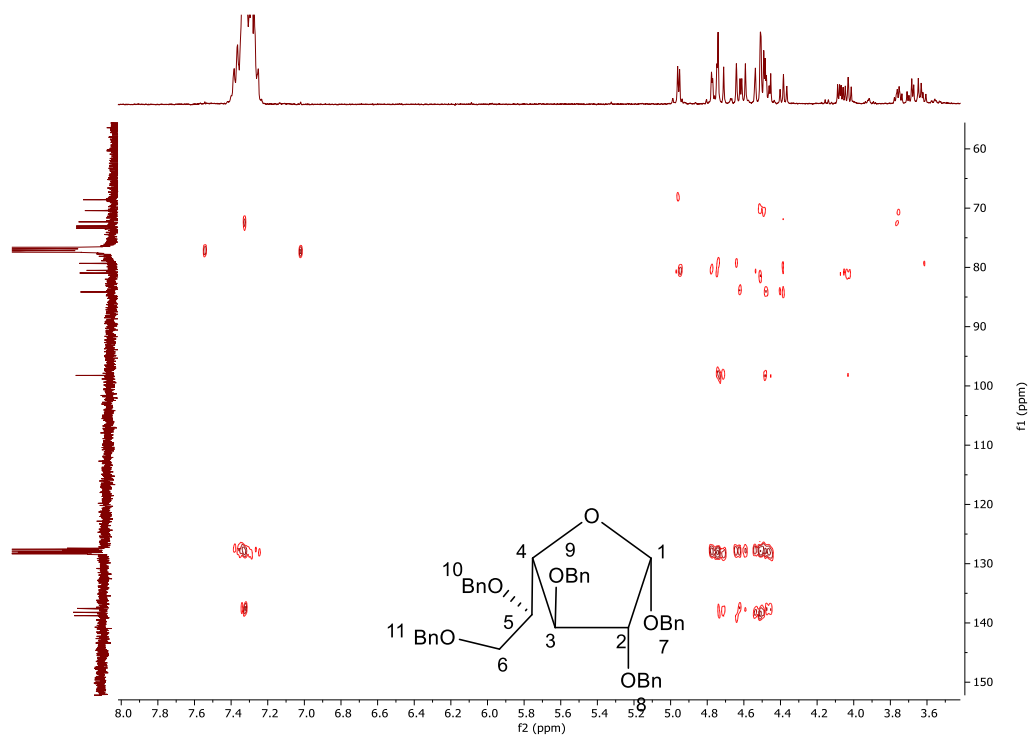
**Figura 6.31** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **70** (101 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )



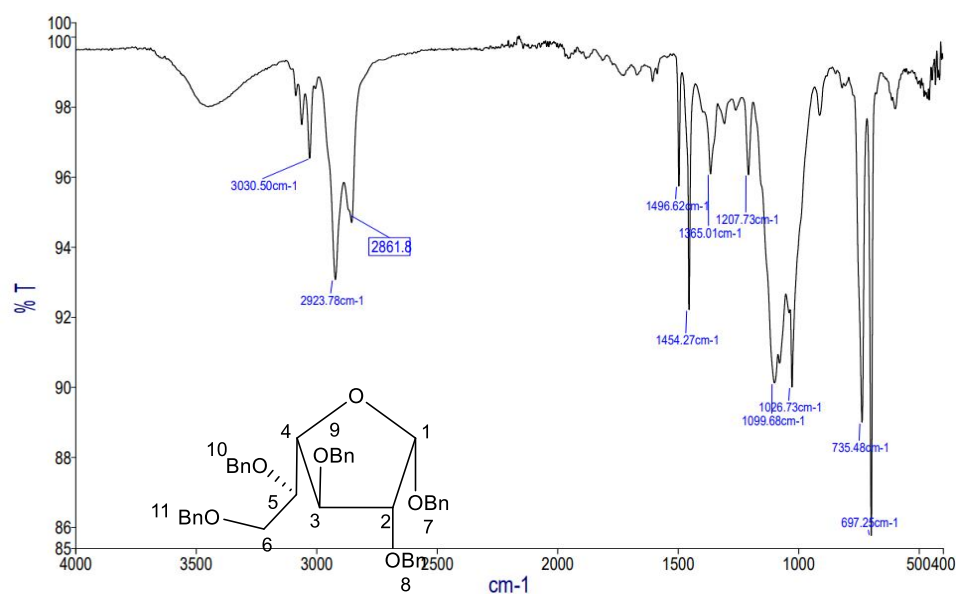
**Figura 6.32** - Espectro de HSQC do composto **70** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )



**Figura 6.33** - Espetro de NOESY do composto **70** (400 Hz; CDCl<sub>3</sub>)

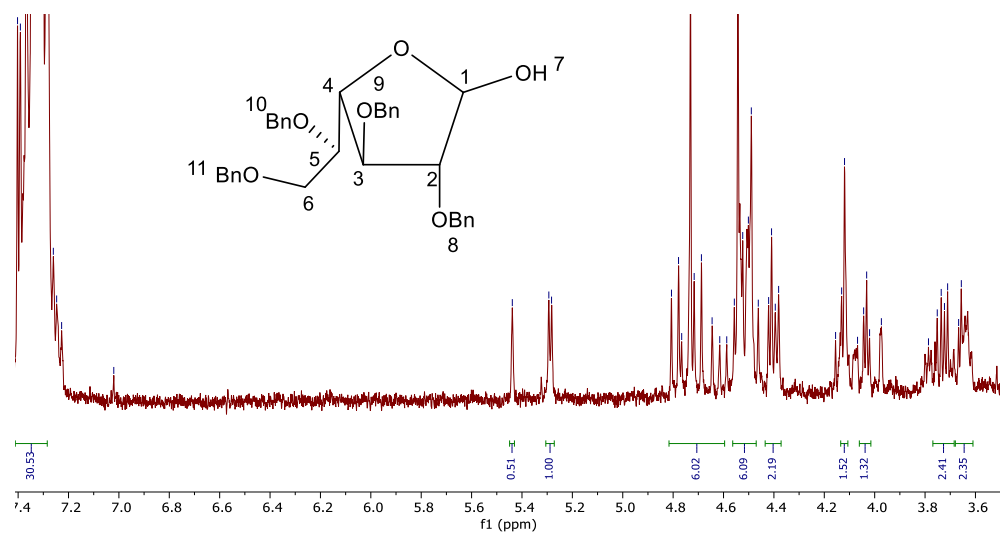


**Figura 6.34** - Espetro de HMBC do composto **70** (400 Hz; CDCl<sub>3</sub>)

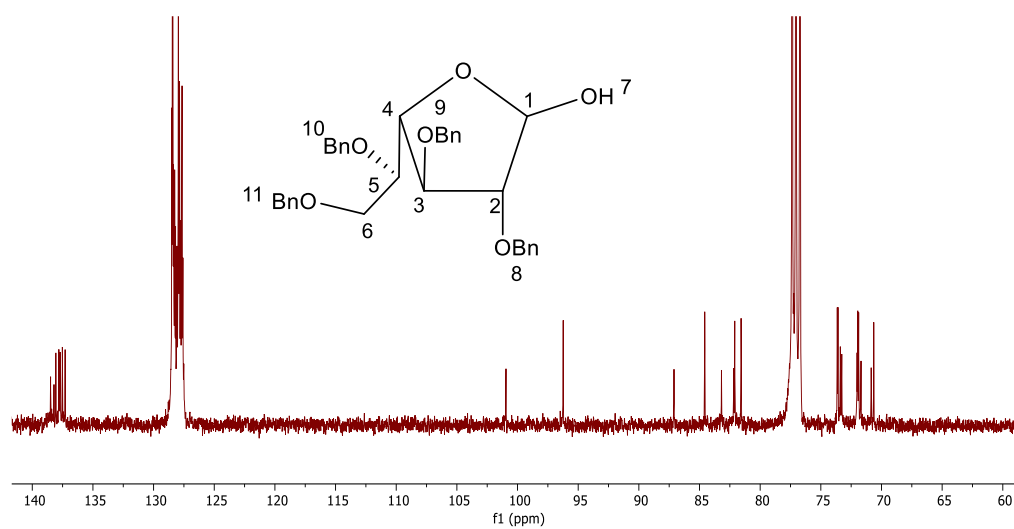


**Figura 6.35 - Espetro de IV do composto 70**

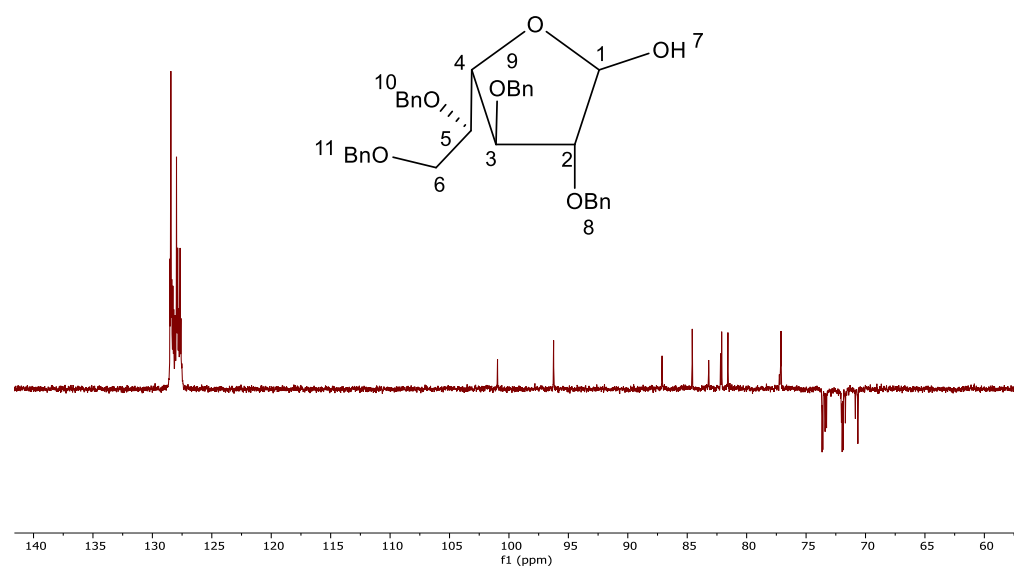
## 6.15 Apêndice 15 – 2,3,4,6-tetra-*O*-benzil- $\alpha$ -D-galactofuranose 71



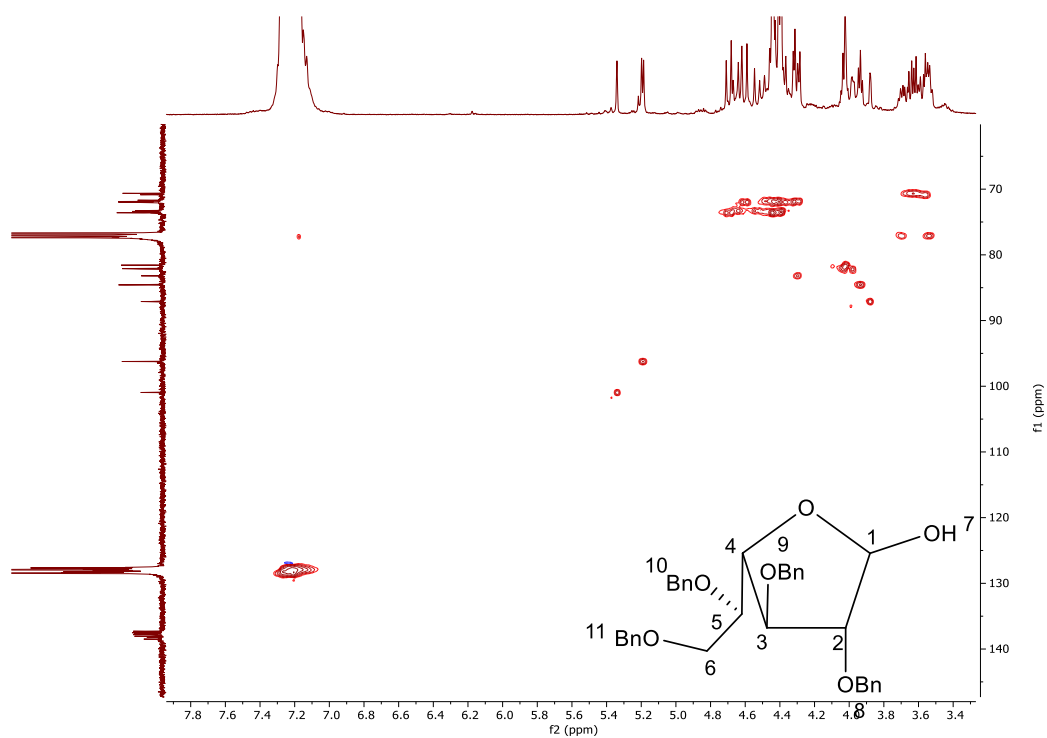
**Figura 6.36 - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto 71 (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )**



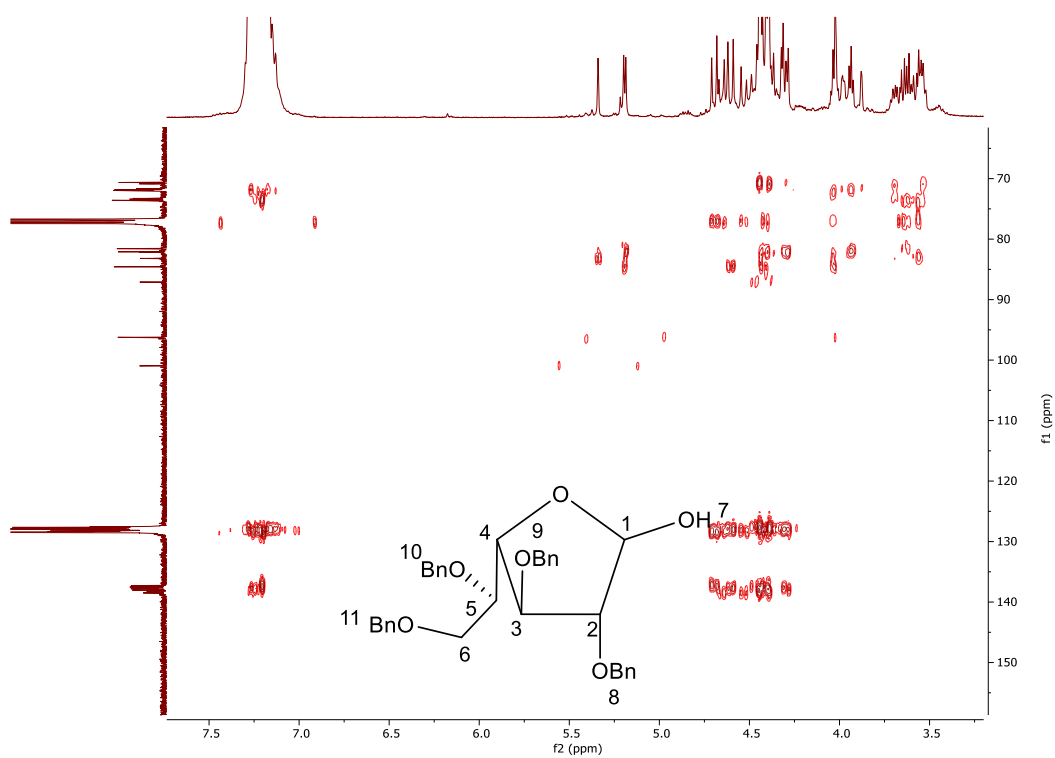
**Figura 6.37** - Espetro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto **71** (101 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )



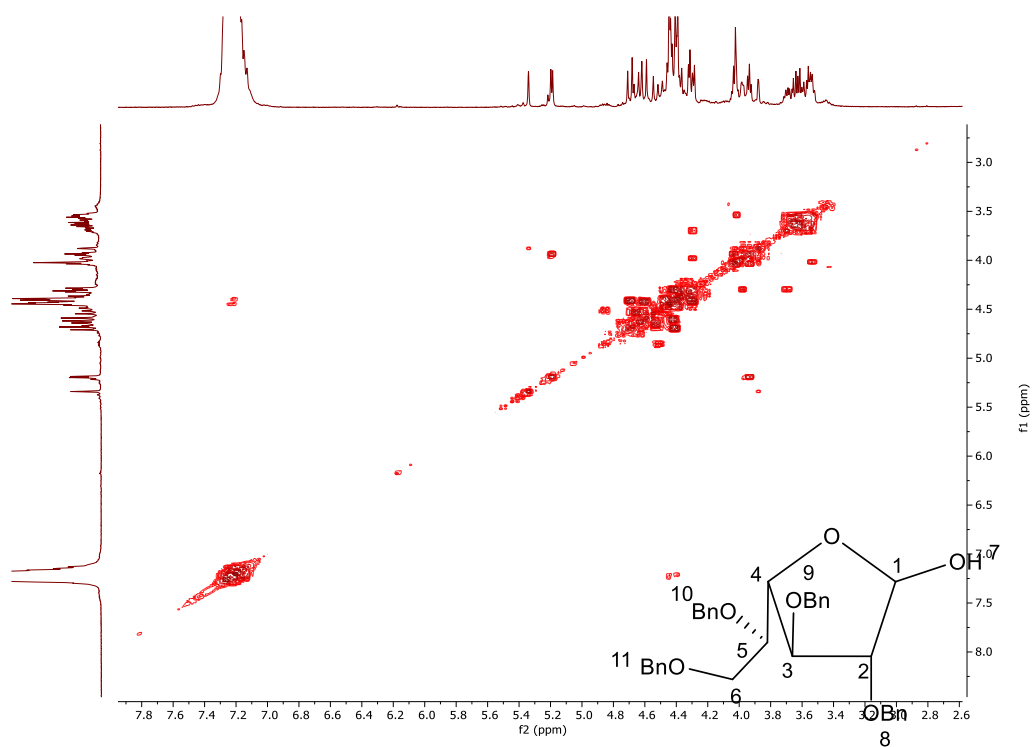
**Figura 6.38** - Espetro de 135-DEPT do composto **71** (101 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )



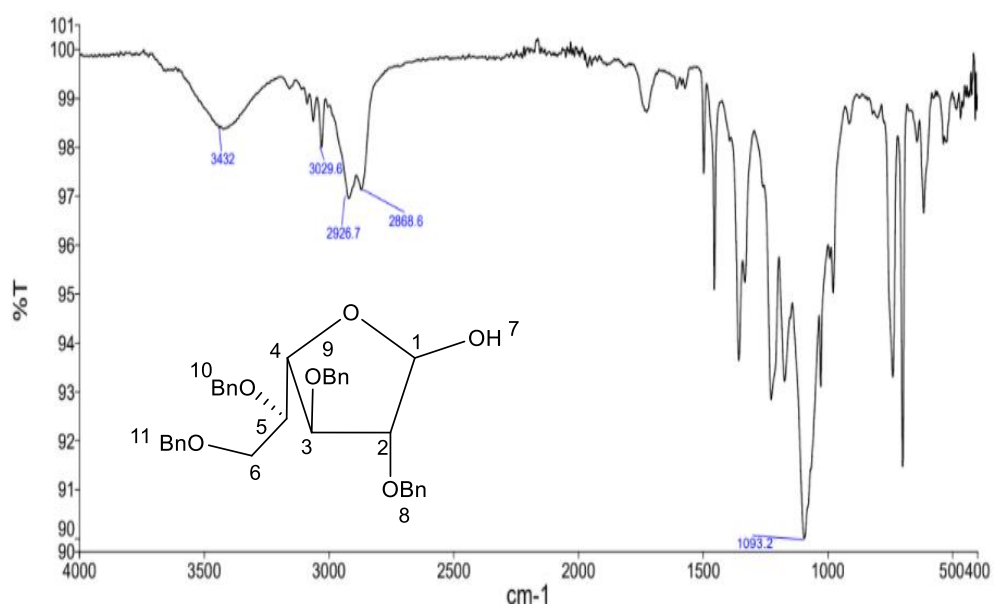
**Figura 6.39** - Espectro de HSQC do composto **71** (400 Hz; CDCl<sub>3</sub>)



**Figura 6.40** - Espectro de HSQC do composto **71** (400 Hz; CDCl<sub>3</sub>)

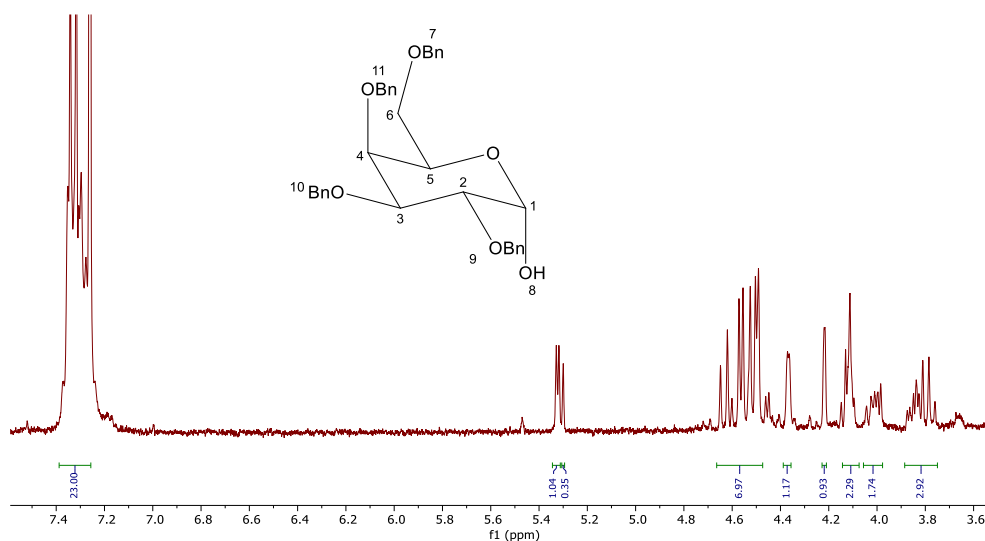


**Figura 6.41** - Espetro de COSY do composto **71** (400 Hz; CDCl<sub>3</sub>)



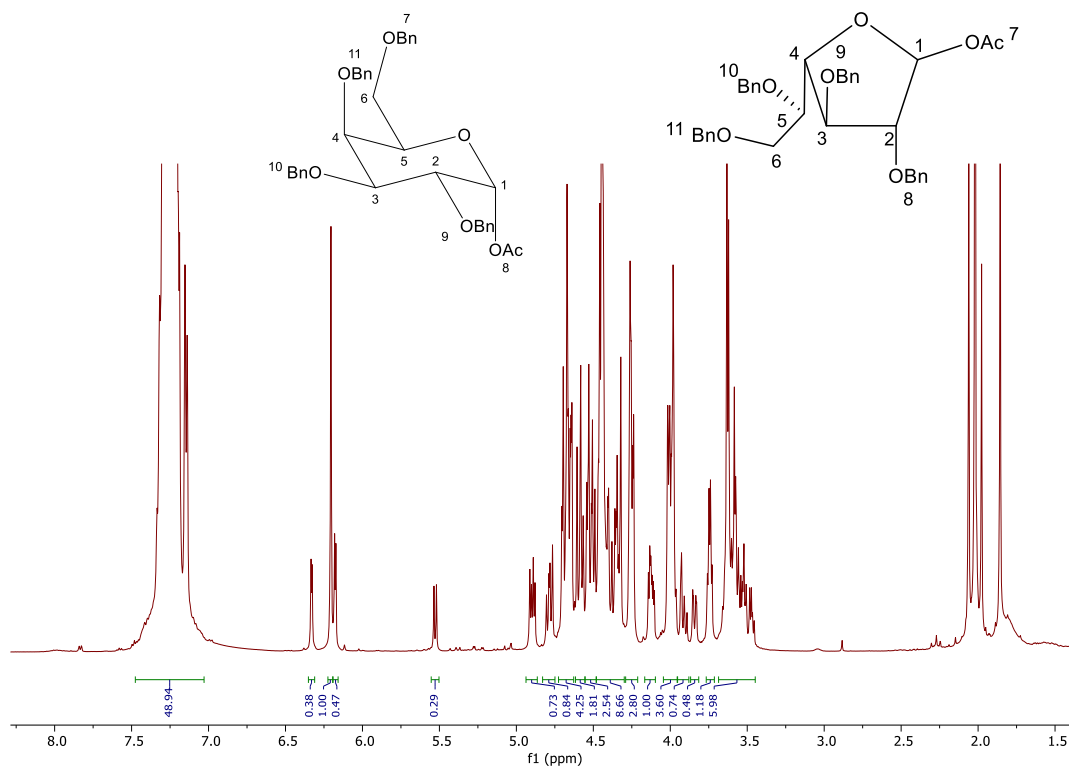
**Figura 6.42** - Espetro de IV do composto **71**

## 6.16 Apêndice 16 - 2,3,4,6-tetra-*O*-benzil- $\alpha$ -D-galactopiranosil 63

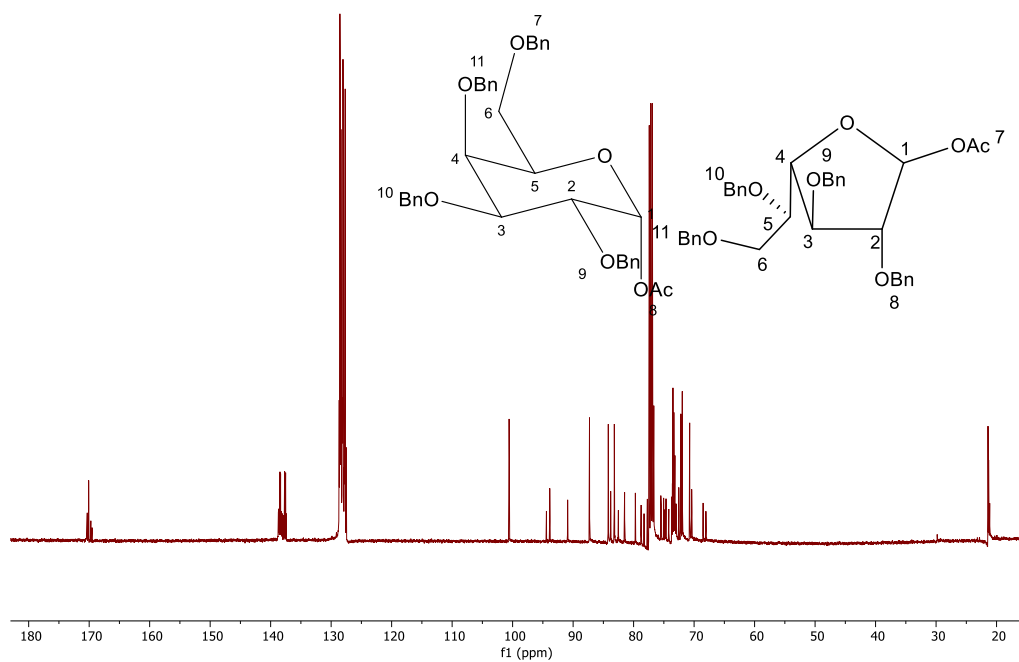


**Figura 6.43** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN do composto **71** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

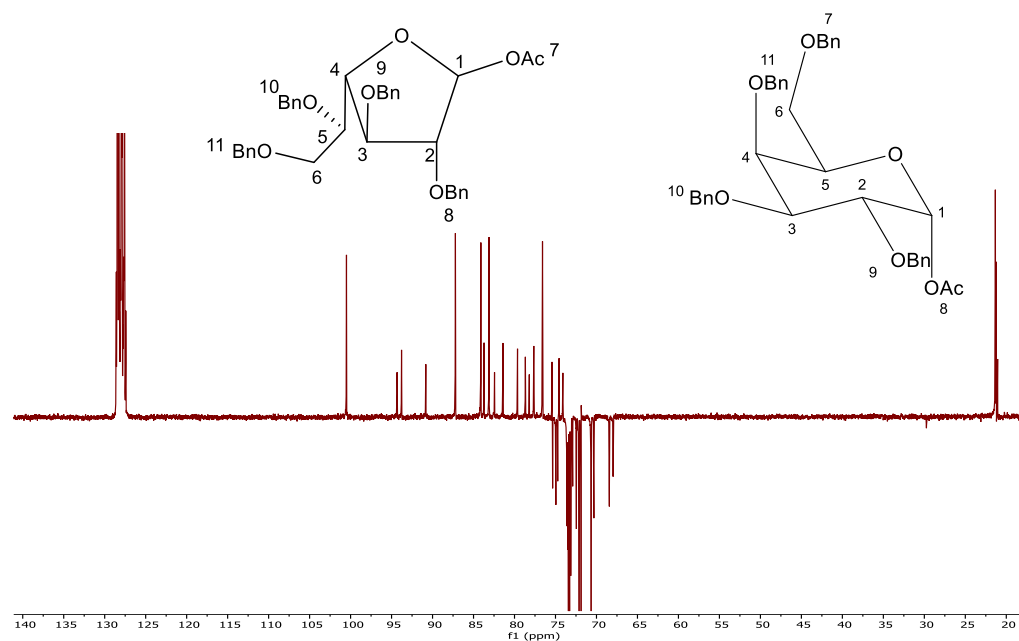
## 6.17 Apêndice 17 – 1-acetil-2,3,4,6-tetra-*O*-benzil-D-galactopiranosil 64 e 1-acetil-2,3,4,6-tetra-*O*-benzil-D-galactopiranosil 72



**Figura 6.44** - Espetro de  $^1\text{H}$  RMN dos compostos **64** e **72** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

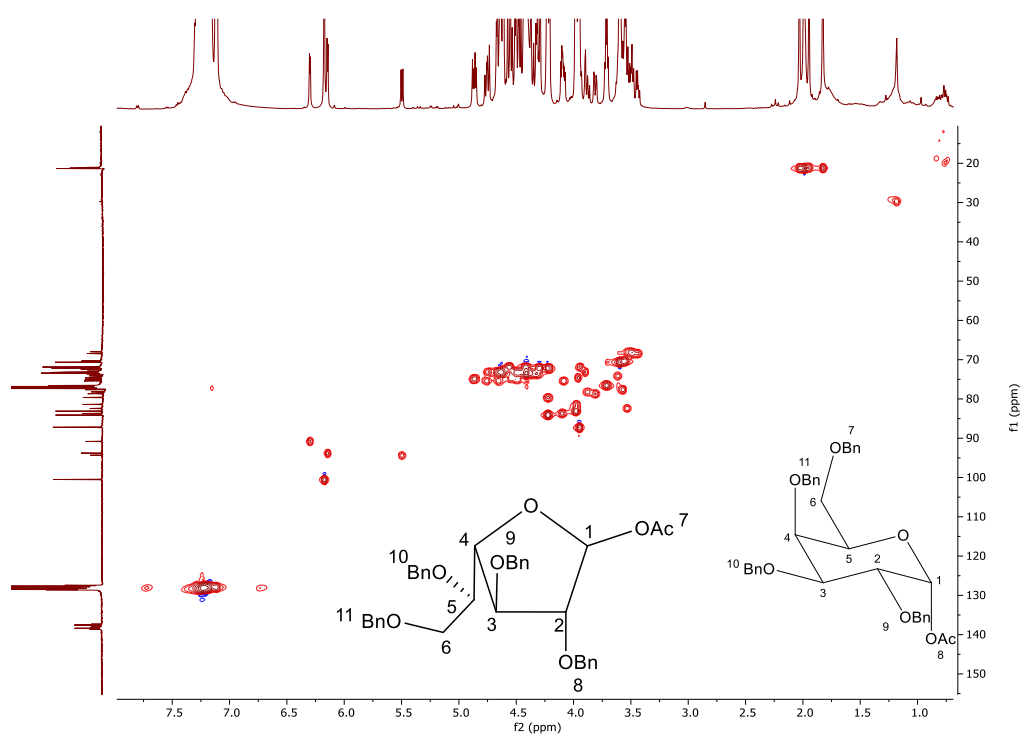


**Figura 6.45** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN dos compostos **64** e **72** (126 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

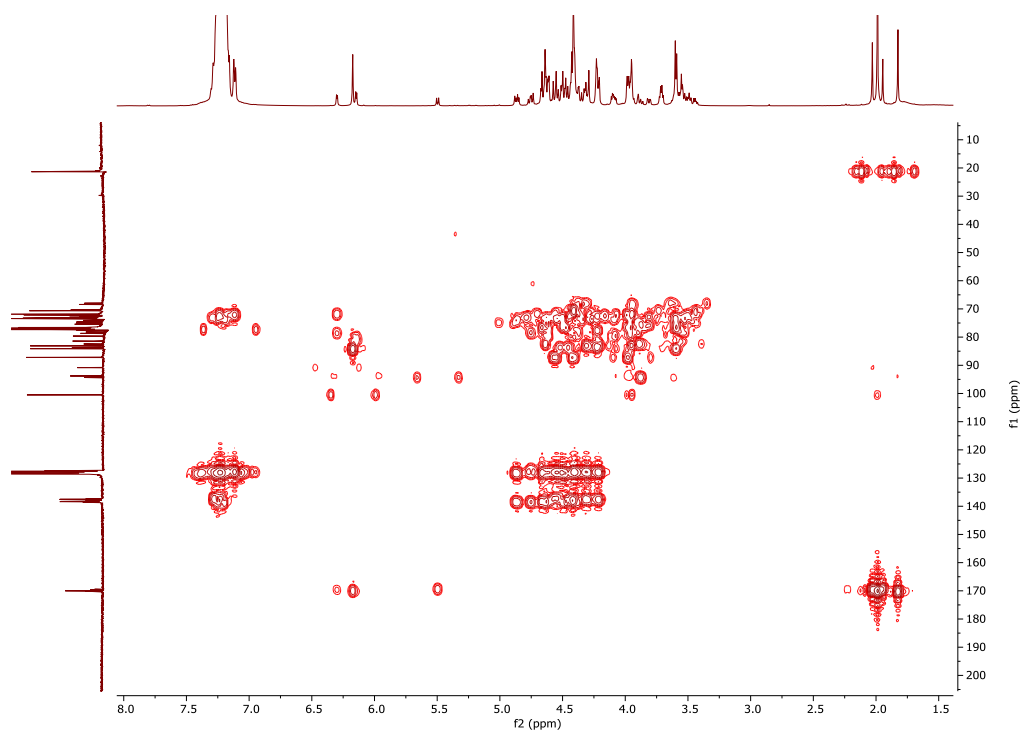


**Figura 6.46** –Espectro de DEPT-135 dos composto **64** e **72** (126 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

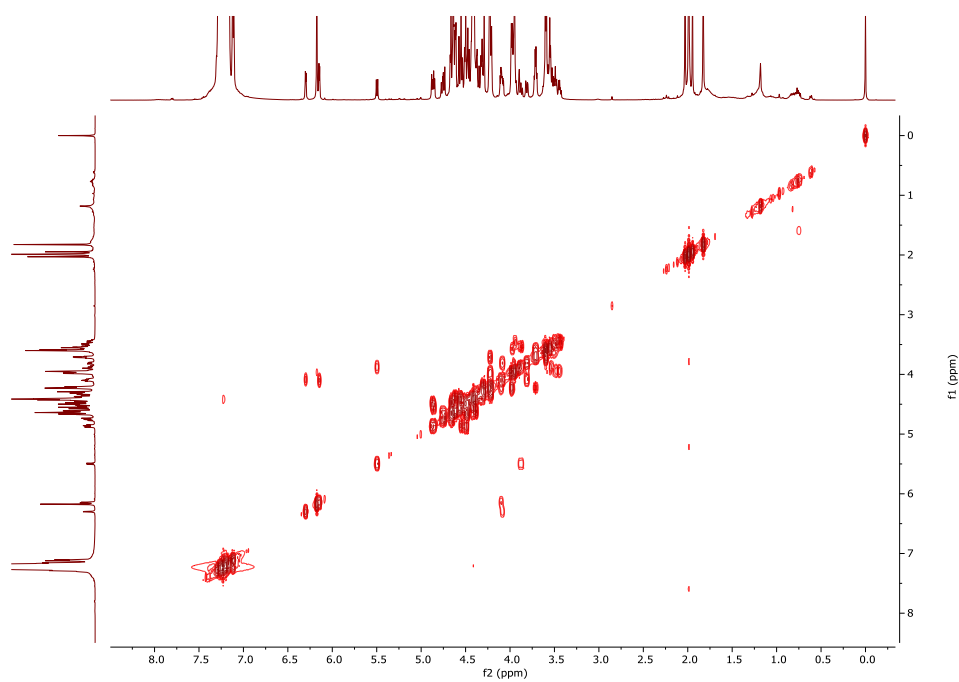




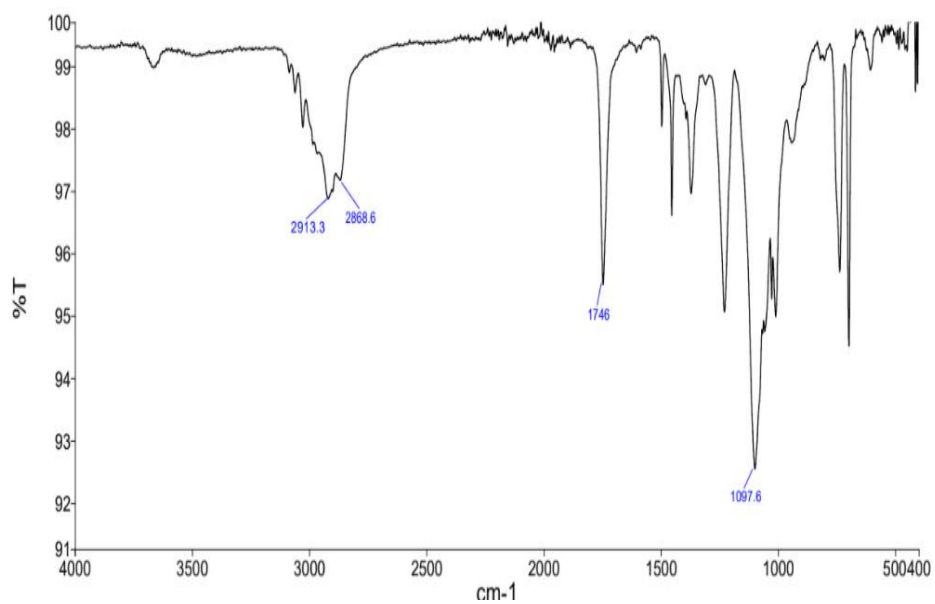
**Figura 6.47** - Espectro de HSQC dos compostos **64** e **72** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )



**Figura 6.48** - Espectro de HMBC dos compostos **64** e **72** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

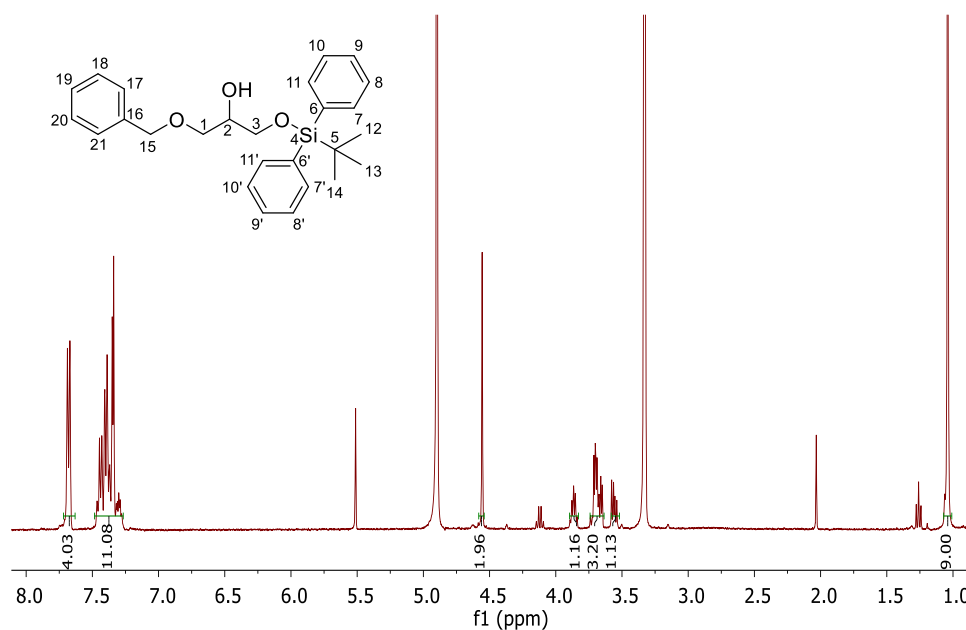


**Figura 6.49** - Espectro de COSY dos compostos **64** e **72** (400 Hz;  $\text{CDCl}_3$ )

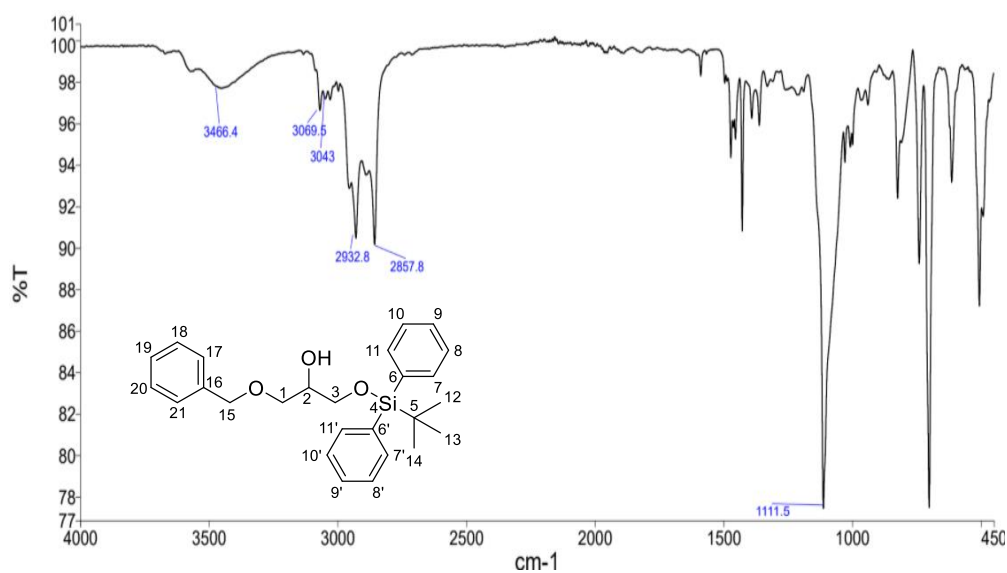


**Figura 6.50** - Espectro de IV dos compostos **64** e **72**

## 6.18 Apêndice 18 – 1-O-benzil-3-O-(tert-butildifenilsilil)glicerol **24**

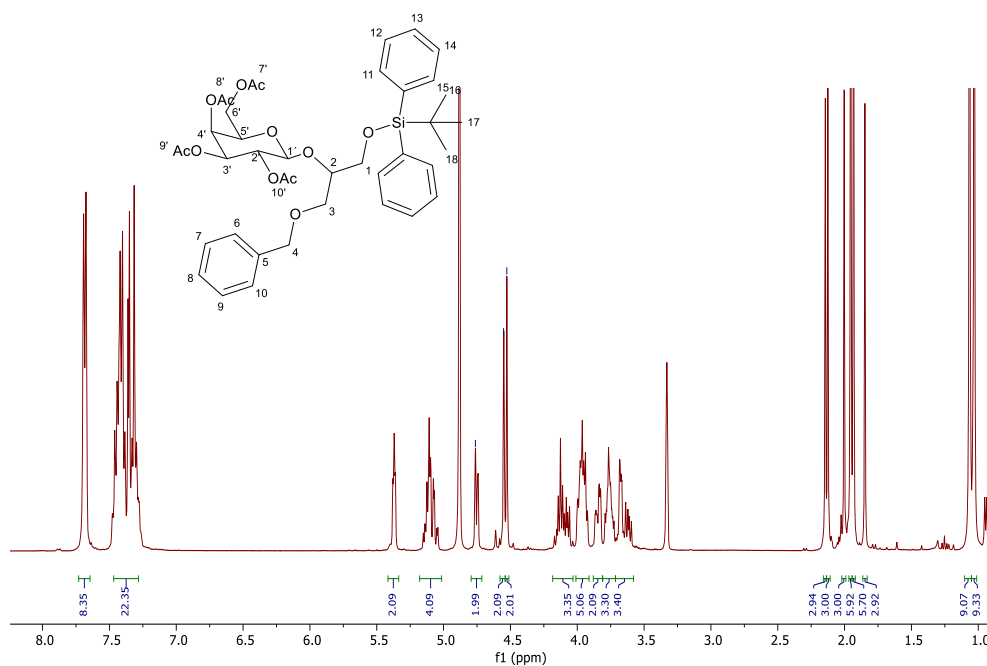


**Figura 6.51** - Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto **24** (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)

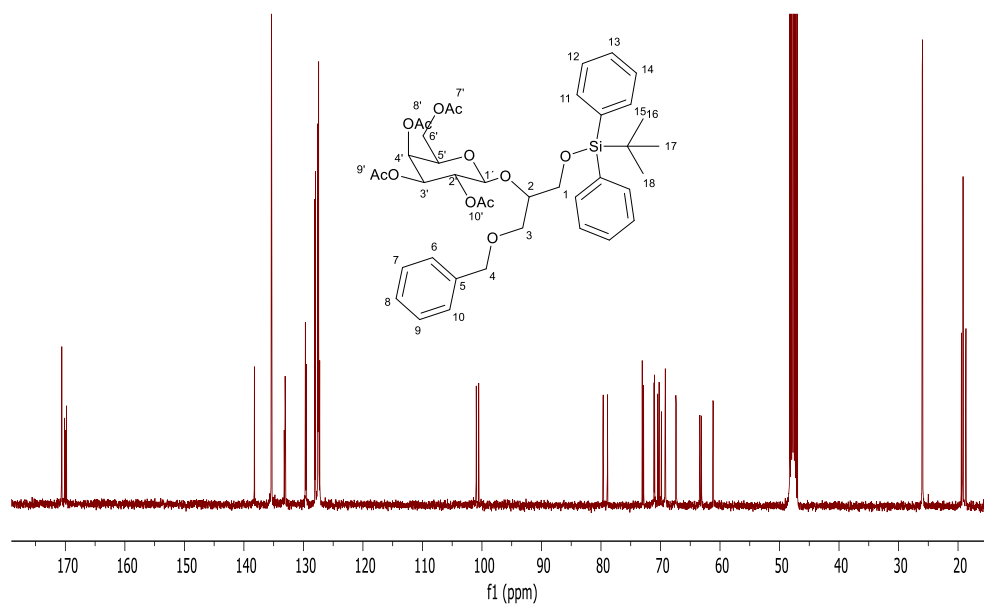


**Figura 6.52** - Espectro de IV do composto **24**

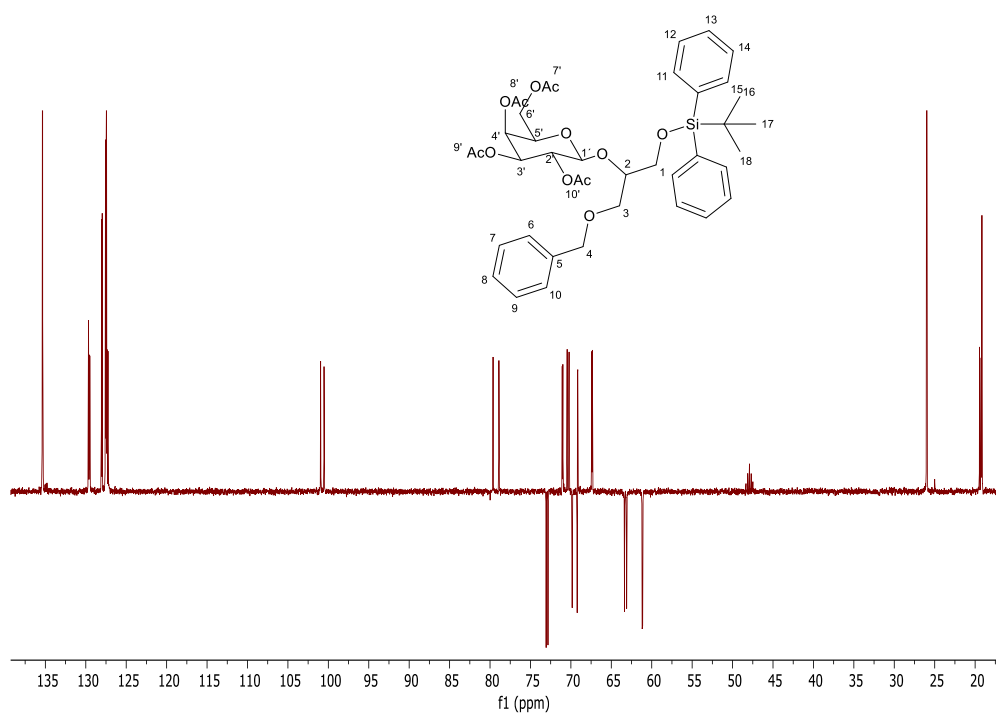
**6.19 Apêndice 19 – [1-(tert-butil-difenilsililoxi-metil)-2-(O-benzil)-etil] (tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil) 66**



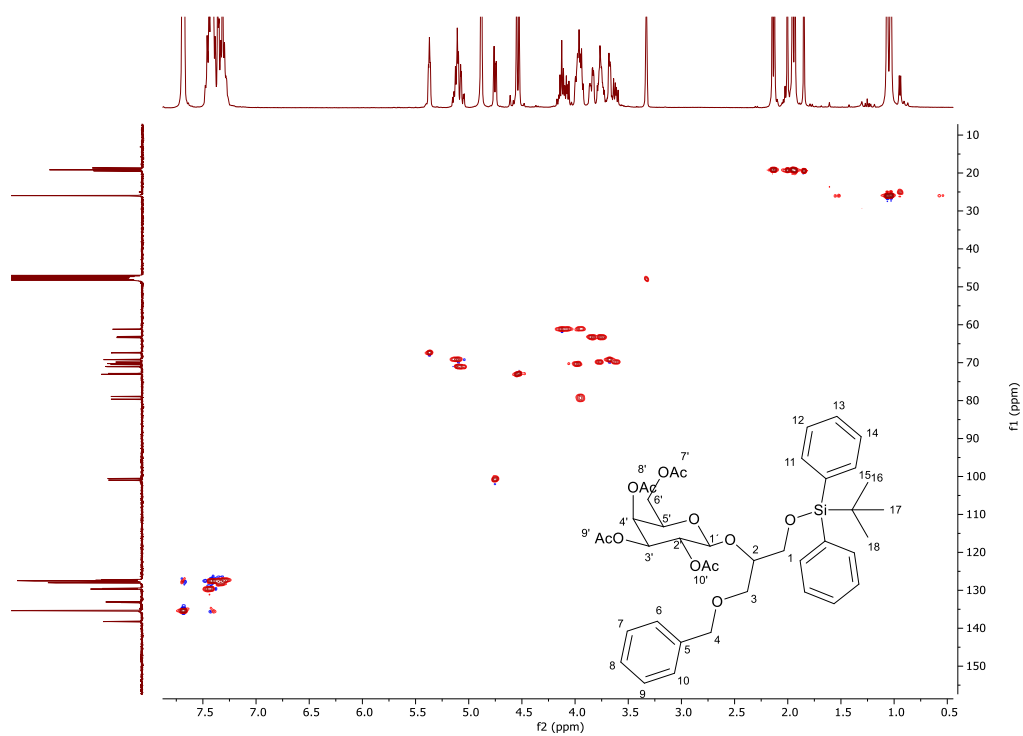
**Figura 6.53** - Espetro de <sup>1</sup>H RMN do composto **66** (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



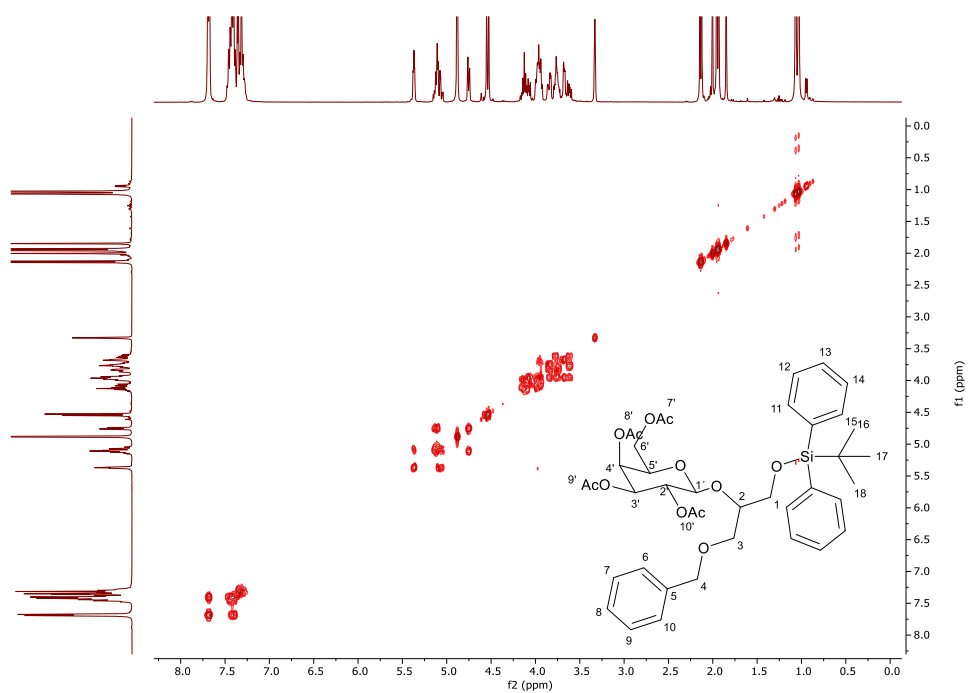
**Figura 6.54** - Espetro de <sup>13</sup>C RMN do composto **66** (101.0 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



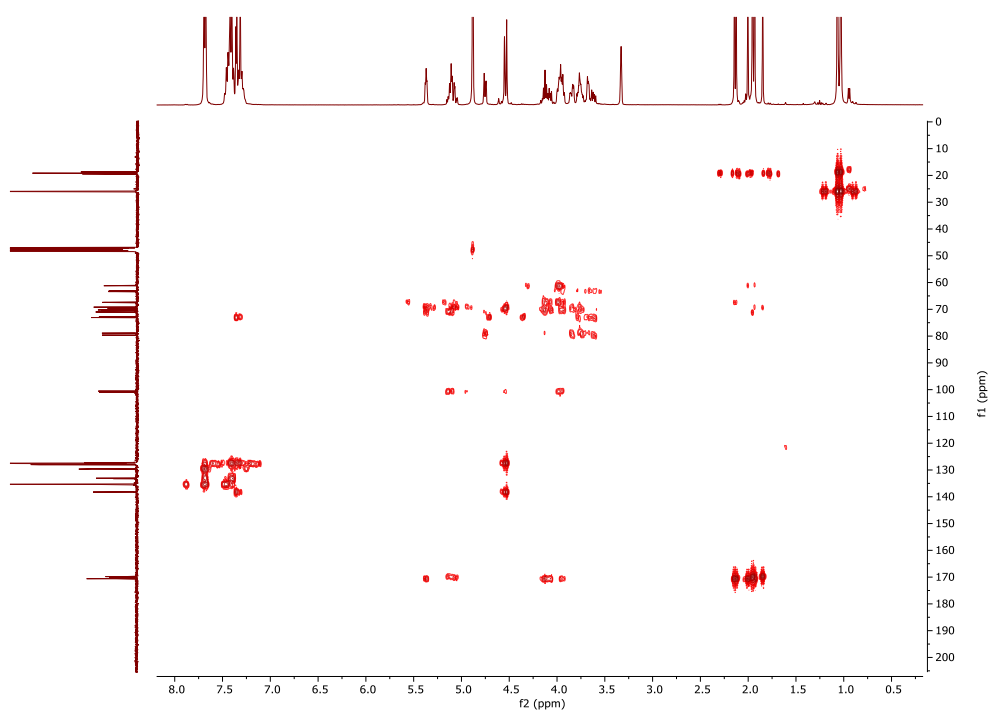
**Figura 6.55** - Espectro de DEPT-135 do composto **66** (101 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



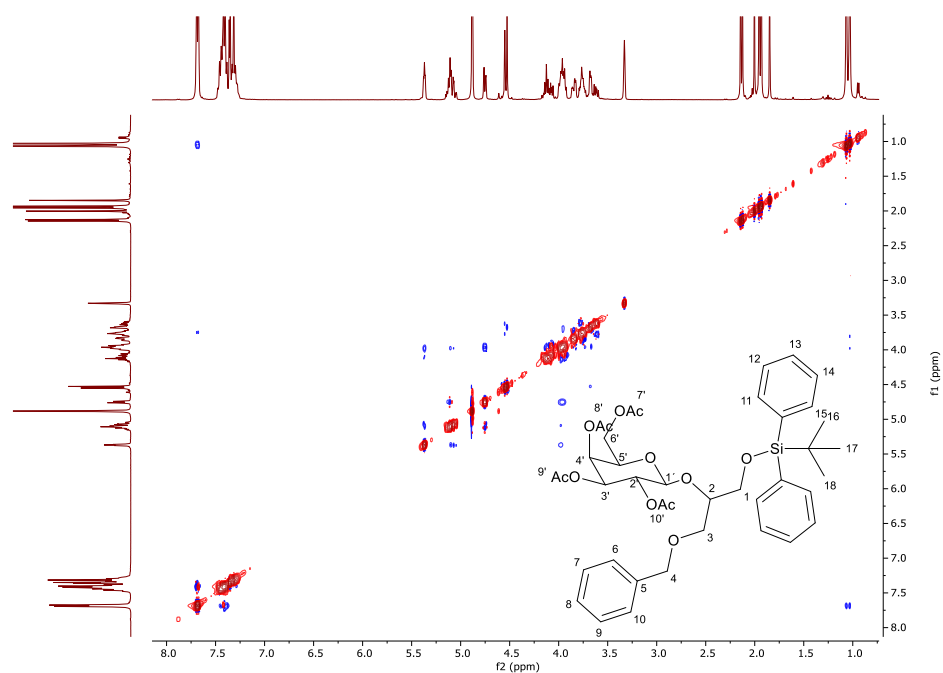
**Figura 6.56** - Espectro de HSQC do composto **66** (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



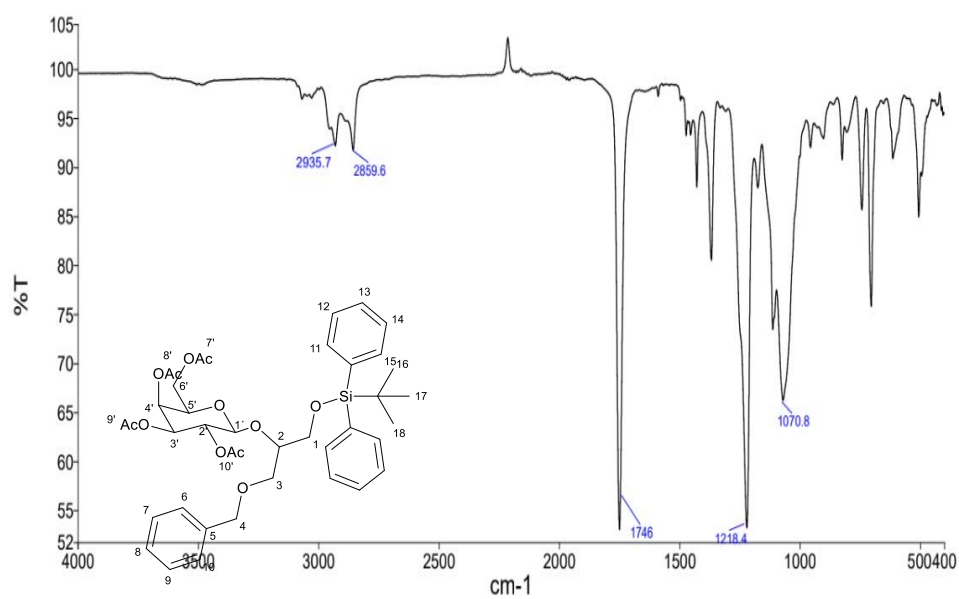
**Figura 6.57** - Espetro de COSY do composto **66** (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



**Figura 6.58** - Espetro de HMBC do composto **66** (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



**Figura 6.59** - Espectro de NOESY do composto **66** (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)



**Figura 6.60** - Espectro de IV do composto **66**